FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1966

# THÈSE

N° 128

POUR

# LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Florence DEPREZ**

Née le 19 Octobre 1931, à Paris XVIe

*Présentée et soutenue publiquement le* 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INFLAMMATION AIGUË

*

## ETUDE CRITIQUE D'UN NOUVEAU MODELE D'EVALUATION D'ACTIVITE DES ANTI-INFLAMMATOIRES

Président : M. PARROT, Professeur

PARIS — 1966

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1966

# THÈSE

N°

POUR

# LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Florence DEPREZ**

Née le 19 Octobre 1931, à Paris XVIe

*Présentée et soutenue publiquement le* 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE EXPERIMENTALE DE L'INFLAMMATION AIGUË

*

## ETUDE CRITIQUE D'UN NOUVEAU MODELE D'EVALUATION D'ACTIVITE DES ANTI-INFLAMMATOIRES

Président : M. PARROT, Professeur

PARIS — 1966

*Parasitologie :* MM. Golvan (Y.); Ho Thi Sang (Mlle); Lapierre (J.)

*Pathologie chirurgicale :* MM. Barcat (J.); Binet (J.-P.); Blondeau (Ph.); Cerbonnet (G.); Chatelin (C.-L.); Dautry (P.); Demirleau; Dubost (Cl.); Faurel (J.); Flabeau (F.); Galey (J.-J.); Garbay (M.); Garnier (H.); Gaudart-d'Allaines (Cl. de); Germain (A.); Lataste (J.); Loygue (J.); Maillard (J.-N.); Mercadier (M.); Natali (J.); Pellerin (D.); Perrotin (J.); Prémont (M.); Robert (H.); Thomeret (G.); Vaysse (J.).

*Pathologie exotique :* M. Schneider (J.)

*Pathologie expérimentale :* MM. Berthaud (P.); Cottenot (Fr.); Lœper (J.), *pr. s. ch.* ; Maurice (J.); Mikol (Cl.); Paupe (J.-R.)

*Pathologie médicale :* MM. Acar (J.); Auquier (L.); Aussannaire (M.); Beaumont (J.-L.); Bernier (J.-J.); Bouvier (J.); Bouvrain (Y); Brissaud (H.); Brocard (H.); Buge (A.); Canivet (J.); Carlotti (J.); Catinat (J.); Chrétien (J.); Cloarec (M.); Coblentz (B.); Contamin (F.); Coury (C.); Debray (J.); Etienne (J.-P.); Frezal (J.); Fritel (D.); Funck-Brentano (J.-L.); Grivaux (M.); Hazard (J.); Hennequet (A.); Himbert (J.); Housset (E.); Lagrue (G.); Lesobre (R.); Leveque (B.); Macrez (C.); Moreau (L.); Nenna (A.); Nick (J.); Poulet (J.); Royer (P.); Tcherdakoff (Ph.); Thibault (Ph.); Tourneur (R.); Villiaumey (J.); Wolfromm (R.).

*Pédiatrie-Puériculture :* MM. Alagille (D.); Alison (J.); Canlorbe (P.); Gorin (R.); Lafourcade (J.); Lepercq (G.); Lestradet (H.); Mallet (R.); Mande (R.); Minkowsky (A.); Mozziconacci (P.); Polonovski (C.); Rey (J.); Ribierre (M.); Rossier (A.); Vialatte (J.);

*Pharmacologie :* MM. Boissier (J.); Lechat (P.).

*Physiologie :* MM. Barres (G.); Durand (J.); Girard (Fr.), *m. conf.* ; Hugelin (A.); Laurent (D.); Scherrer (J.), *pr. s. ch.* ; Vasseur (B.);

*Physique médicale :* MM. Chanteur (J.); Coursaget (J.); Gremy (F.), *m. conf.* ; Milhaud (G.); Pagès (J.-Cl.); Pellerin (P.); Roucayrol (J.-C.), *pr. s. ch.* ; Tubiana (M.), *m. conf.*

*Pneumo-phtisiologie :* MM. Decroix (G.); Israel (L.); Meyer (A.); Renault (P.); Sors (Ch.).

*Psychiatrie infantile :* MM. Deniker (P.); Duche (D.); Flavigny (H.).

*Radiologie médicale :* MM. Dubost (J.); Lefebvre (J.); Michel (J.-R.).

*Rhumatologie :* M. Massias (P.).

*Stomatologie :* MM. Cauhepe (J.); Cernea (P.); Chaput (Mme A.), *m. c. agr.* ; Crepy (Cl.); Fleury (R.); Grellet (M.).

*Thérapeutique :* MM. Chassagne (P.); Fouet (P.); Labet (R.); Marche (J.).

*Urologie :* MM. Auvert (J.); Moulonguet (A.); Quenu (L.).

## III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

*Anatomie :* M. Debeyre (J.).
*Clinique chirurgicale :* M. Verne (J.-M.).
*Clin. médic. :* MM. Rambert (P.); Thieffry (S.).
*Clinique obstétricale :* MM. Grasset (J.); Mayer (M.); Morin (P.).
*Clinique ophtalmologique :* M. Desvignes (P.).
*Clinique pédiatrique et puéri. :* M. Laplane (R.).
*Clinique psychiatrique :* M. Baruk (H.).
*Clinique urologique :* M. Kuss (R.).

## IV. — PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

*Bactériologie :* M. Haudduroy (P.), *pr. s. ch.*
*Pathologie chirurgicale :* M. Rudler (J.), *pr. s. ch.*

## V. — CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

M. BOLTANSKI (E.) — M. LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté : M. Lena (J.)
Conseiller administratif : Mlle Chaintreuil (G.).
Conservateur en Chef de la Bibliothèque, Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine : M. le Docteur Hahn (A.)

Conservateurs : Mlles Dumaitre (P.), Le Noir (G.), Quiévreux (E.).
Bibliothécaires : Mmes Contet (J.), Forget (F.), Mlle Laurent (H.); Docteur Schiller (J.).

---

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

A MES PARENTS

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR JEAN-LOUIS PARROT

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Paris
Directeur de Laboratoire à l'Ecole Pratique des
Hautes Etudes
Biologiste des Hôpitaux
Chef de Service

Nous avons bénéficié de la qualité
de son enseignement.
Nous le remercions de son bienveillant
accueil, de l'intérêt qu'il a bien
voulu porter à ce travail, de ses
conseils et du grand honneur qu'il
nous a fait en acceptant la
présidence de cette thèse.

A NOTRE JURY DE THESE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544324_0031

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CLEMENT LAUNAY

Chef de Service

Pédo-Psychiâtre de l'Hôpital Hérold

Qui nous a accueilli avec tant de bienveillance dans son Service.
Il nous a donné de précieux conseils qui ont orienté notre avenir.

Son extrême simplicité, son admirable bon sens, sa très grande honnêteté intellectuelle, l'intérêt qu'il porte à tous resteront pour nous un exemple.

Nous le prions d'accepter ce témoignage de notre reconnaissance et notre respectueux attachement.

A MONSIEUR LE DOCTEUR JACQUES PUECH

Ancien Chef de Clinique à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin Chef à l'Hôpital Psychiâtrique de
Clermont-de-l'Oise

Interne dans son Service, nous le remercions de nous avoir prodigué son enseignement nous permettant de découvrir et d'approfondir la Psychiâtrie.

Nous avons apprécié la finesse et l'originalité de son esprit.

Nous lui sommes reconnaissante de sa bienveillance à notre égard. Qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR PIERRE LALLOUETTE

Chef de Laboratoire à l'Hôpital Saint-Jacques

Qui nous a inspiré ce travail et nous a guidé dans sa réalisation.
Il nous a permis de redécouvrir en biologie la "clé" de toute investigation : l'importance d'une attitude phénoménologique.
"le symptôme n'est que la résultante de la réactivité propre d'un sujet à une ou un ensemble de causes"

en remerciement :

extrait de la prière de Moïse Maïmonide (XIIème Siècle)

"O Dieu, remplis mon âme d'amour pour l'art et pour toutes les créatures...

Grandes et sublimes sont les recherches scientifiques qui ont pour but de conserver la santé et la vie de toutes les créatures...

Eloigne de moi l'idée que je peux tout, donne moi la force, la volonté et l'occasion d'élargir de plus en plus mes connaissances je peux aujourd'hui découvrir dans mon savoir des choses que je ne soupçonnais pas hier, car l'art est grand, mais l'esprit de l'homme pénètre toujours plus avant".

" ... opposer le médecin au physiologiste, l'homme de Science au clinicien, cela signifie qu'on n'a rien compris ni à la Physiologie, ni à la Médecine."

Ch. RICHET

# I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

L'importance et la constance du phénomène inflammatoire en pathologie ont incité de nombreux expérimentateurs à consacrer leurs travaux à la recherche des mécanismes propres à l'installation et à l'évolution de ce processus pathologique.

De très nombreuses techniques ont été imaginées pour reproduire une inflammation expérimentale, qui ont permis de réaliser d'importants progrès dans la connaissance de l'inflammation et de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de certaines substances.

Il nous a paru intéressant après un bref historique, de faire un exposé rapide de nos connaissances actuelles sur les aspects biochimiques et biologiques de l'inflammation, de décrire les méthodes d'étude expérimentales utilisées couramment à présent et d'en faire la critique. Pour que l'activité pharmacodynamique d'une substance anti-inflammatoire puisse être appréciée sur des modèles expérimentaux il faut que ceux-ci soient parfaitement reproductibles et codifiables. La diversité des techniques qui ont été proposées peut être expliquée par la complexité même du phénomène inflammatoire et par les très nombreux facteurs susceptibles de modifier la réponse d'un organisme à une agression.

Il n'existe pas une seule technique absolument satisfaisante. Le but de ce travail est de décrire en détail un nouveau modèle d'étude de l'inflammation reproduisant assez étroitement les conditions pathologiques rencontrées en clinique.

La valeur de la méthode sera démontrée en l'appliquant à des substances à activité anti-inflammatoire bien connue.

Le plan de notre exposé comprendra cinq chapitres.

*

*  *

I - HISTORIQUE

II - MECANISME DE L'INFLAMMATION

1° - REACTION VASCULAIRE

2° - DIAPEDESES

3° - REACTIONS CELLULAIRES

4° - EVOLUTION DU FOYER INFLAMMATOIRE

5° - BIOCHIMIE DU PHENOMENE INFLAMMATOIRE

## III - MODELES EXPERIMENTAUX D'ETUDE DE L'INFLAMMATION

### 1° - ETUDE DE LA REACTION INFLAMMATOIRE

a) animaux d'expérience

b) agents inflammatoires

### 2° - ETUDE DES MODELES SELON LA REACTION

Inflammation provoquée

a) localement (sur l'animal neuf)

- réactivité immédiate
- réactivité mixte
- réactivité retardée

b) par sensibilisation

- naturelle
- provoquée

## IV - ETUDE DES SUBSTANCES ANTI-INFLAMMATOIRES

### 1° - SELON LE MODELE D'INFLAMMATION

a) l'animal

b) le facteur inflammatoire

c) les conditions expérimentales

### 2° - LA MESURE

a) intensité de l'érythème

b) exsudat plasmatique

c) réaction cellulaire précoce

d) œdème

e) réaction cellulaire tardive et prolifération conjonctive

### 3° - LA SUBSTANCE ETUDIEE

a) son mode d'administration

b) la dose et son temps d'administration

c) l'interprétation des résultats

## V - LE MODELE PROPOSE

### 1° - LA SUBSTANCE PHLOGISTIQUE

a) la toxine staphylococcique
ses propriétés

b) préparation

### 2° - LE MODELE EXPERIMENTAL

a) animal réactif

b) technique

c) mesure de la réaction inflammatoire

d) titrage de la toxine

### 3° - LA REACTION INFLAMMATOIRE ET SON EVOLUTION

a) dans le temps

b) en fonction du lieu d'inoculation

c) en fonction du nombre d'inoculations

### 4° - ETUDE IMMUNOLOGIQUE

a) immunité "naturelle"

b) immunité spécifique anti-staphylococcique

- immunisation passive
- immunisation active

c) immunité croisée

5° - AUTRES MODELES POSSIBLES

a) autres animaux

b) autres voies d'administration

c) autres toxines microbiennes

6° - COMPARAISON DE CE MODELE D'ETUDE AVEC D'AUTRES MODELES

a) comparaison avec l'oedème au formol

b) comparaison avec l'oedème au kaolin

c) comparaison avec l'oedème à la carragénine

7° - UTILISATION DU MODELE DANS L'ETUDE DES ANTI-INFLAMMATOIRES

1° - ESSAIS SUR LE RAT

a) traitement local

b) traitement général

2° - ESSAIS SUR LA SOURIS

## 8° - DISCUSSION DE L'INTERET DU MODELE

a) intérêt "théorique"

b) intérêt "pratique"

c) standardisation

- animaux
- toxine
- sensibilité à un témoin thérapeutique

## CONCLUSION

## BIBLIOGRAPHIE

- I -

Essayer de retracer, même brièvement, l'histoire de l'Inflammation, l'un des processus pathologiques les plus importants, c'est retracer l'histoire même de la Médecine dont l'évolution est le reflet de l'Histoire générale des Sciences Humaines.

C'est revivre l'aventure, la démarche continuelle de l'homme partant du Connu pour aller vers l'Inconnu, de l'homme qui veut connaître, observe et interprète. Mais c'est aussi revivre l'aventure de l'homme pusillanime et borné, Diafoirus triomphant "s'attachant aveuglément aux opinions de nos anciens" et ne voulant jamais "comprendre ni écouter les raisons et les expériences des prétendues découvertes de notre siècle touchant la circulation du sang et autres opinions de même farine".

Où est cette continuité de l'effort vers la Vérité qui fait déjà affirmer à Hippocrate : "Les découvertes anciennes doivent servir de base aux découvertes qui restent à faire". Et pourtant, malgré la stagnation apparente - qui dura parfois plusieurs siècles - de cette médecine empirique, encombrée de pratiques absurdes, une vérité partielle il est vrai, se faisait jour. Réfutée à l'époque où elle fut énoncée ou néfaste en son application, chaque hypothèse apportait cependant sa pierre à l'édifice. Certaines trouveront parfois beaucoup plus tard leur justification au moment où de nouvelles conceptions scientifiques leur rendront crédit.

Phénomène observé et décrit depuis les temps les plus anciens, nous avons retrouvé de nombreux textes concernant l'inflammation, il nous sera impossible de les citer tous ici.

HIPPOCRATE

Avec Hippocrate (Vème siècle avant J.C.) commence l'histoire de la médecine en Occident. Le maître de Cos, héritier des philosophes grecs, de Pythagore et d'Héraclite pose comme principe l'existence d'un processus général, le symptôme n'est pas un fait isolé. Il décrit souvent l'inflammation appelée également phlegmasie (Φλεγμασία de Φλέγω : je brûle) sans doute par suite de la ressemblance qu'on a trouvée entre cette maladie et les effets de la brûlure et de la chaleur des parties.

"... des parties environnantes les plaies quelqu'en soit le siège tirent l'inflammation et le gonflement par l'afflux de sang" telle est la première explication du processus, donnée par Hippocrate dans son livre sur les plaies de la tête. Mais pourquoi cet afflux sanguin ? la réponse était limitée, on ignorait tout de la circulation du sang. Celse définira quelques siècles plus tard les quatre symptômes caractérisant l'état d'inflammation : rubor et tumor, calor et dolor. Ils sont retrouvés dans toutes les observations d'Hippocrate : la chaleur, le battement, l'induration, la teinte rouge. Il note qu'un certain temps de latence existe parfois avant l'apparition des signes caractéristiques : "généralement le troisième et quatrième jour engendrent dans la plupart des plaies les conditions qui y suscitent l'inflammation".

Du traitement, il est question dans le chapitre des maladies aigues. C'est bien sûr "la saignée, remède capital, ensuite on en vient aux clystères" mais "la saignée avec la purgation a besoin de précautions et de modération" sinon les médecins déterminent "la fonte des parties saines et qui résistent au mal, le corps ayant été débilité". Pour lutter contre "l'engorgement des humeurs" qu'il faut absolument combattre, on a recours à la révulsion et aux applications émollientes.

IIème Siècle : ROME

Vers la fin du IIème Siècle : Galien, ses idées vont régner en maitresses absolues pendant très longtemps. Pour lui, l'inflammation, c'est l'introduction du sang dans une partie qui n'en contenait pas. La thérapeutique se résume dans ce principe "Contraria contrariis" le corps doit être débarrassé des "humeurs peccantes".

LE MOYEN AGE

Dans la première période du Moyen Age, du Vème au IXème Siècle, en Orient, l'enseignement de l'Ecole d'Alexandrie s'inspire des écrits de Galien; l'Occident semble vivre dans l'ignorance. Puis survient la grande figure médicale du XIVème Siècle : Guy de CHAULIAC. Son oeuvre maitresse écrite vers 1363 à Avignon est un inventaire de toutes les connaissances de l'époque. La diète et la saignée, puis les légers répercussifs locaux et généraux, les anodins et les calmants comme l'huile de rose et la jusquiame sont les indications qu'il donne dans les tumeurs inflammatoires.

XVIIème Siècle

Il fallut attendre le XVIIème Siècle pour se dégager des idées régnantes jusqu'alors qui négligeaient les faits, période stérile uniquement préoccupée de dialectique.

A cette époque, l'étude des anciens n'est pas abandonnée, VAN HELMONT (1577-1644) qui à l'exemple de Paracelse entreprit de réformer la médecine de son temps, commence à étudier l'art de guérir dans les écrits des anciens et se pénètre d'Hippocrate et de Galien. Le hasard et une thérapeutique malheureuse appliquée

à lui-même furent la cause de son éloignement pour le système des humoristes. Il fut le premier à employer le terme devenu courant "d'épine irritative". La cause de l'inflammation, c'est l'irritation, c'est elle qui attire le sang dans la partie malade. Il rendit l'inappréciable service à la médecine de démontrer les suites fâcheuses que peut entrainer l'abus de la phlebotomie. Il l'explique à sa manière, en reprenant la théorie de Galien sur les esprits vitaux. La saignée est non seulement une opération inutile, elle peut nuire aussi en diminuant la masse de l'esprit vital qui réside dans le sang et empêche son altération tant qu'il circule. C'est la réfutation de l'idée de putrescence du sang à l'intérieur de l'organisme.

Ses idées furent reprises par Lucas Antoine PORTIUS qui pratiquait la médecine à Rome vers 1682 : dans les inflammations on doit avoir plutôt égard à l'irritation locale qu'à la quantité de sang.

Mais le XVIIème Siècle peut surtout être qualifié de siècle de HARVEY, par qui s'ouvrit une ère nouvelle avec la découverte de la circulation du sang. Grâce à elle et au microscope connu depuis 1590, les recherches vont se multiplier et la méthode expérimentale s'imposera peu à peu.

Recherches et hypothèses ont pour point de départ le phénomène le plus évident de l'inflammation : l'afflux de sang. A ce moment MALPIGHI vient de découvrir les capillaires sanguins. Professeur de Médecine à l'Université de Pise, il y fait la connaissance de BORELLI et de ses méthodes d'investigation : observation précise, expérience et démonstration. BORELLI avait appris à unir les mathématiques et la physique expérimentale à la médecine, au sein d'une société de disciples de GALILEE qui cherchaient à développer sa philosophie. Ce fut l'origine de l'école Iatromécanique ou iatromathématique. Elle avait basé son système sur la comparaison du corps humain avec les machines et le calcul des

fonctions d'après les lois de l'hydraulique. La propagation de la philosophie de Descartes ne fut pas elle non plus, étrangère à cette union de la médecine et des mathématiques.

XVIIIème Siècle

Hermann BOERHAAVE (1668-1738) l'un des plus célèbres représentants de l'iatromécanisme attribue l'inflammation à la stagnation du sang dans les petits vaisseaux. Il reprend la doctrine de son maître PITCARN pour qui le phénomène inflammatoire est dû à la congestion du sang au milieu des vaisseaux capillaires et dans l'afflux plus considérable du "fluide circulatoire pour dissiper l'engorgement". Mais contrairement aux principes de son maître qui admet un mouvement ralenti du sang par accroissement du diamètre des vaisseaux, BOERHAAVE croit voir une congestion déterminée par le rétrécissement des canaux d'où augmentation de la poussée sanguine pour vaincre l'obstacle.

Quoiqu'il en soit, pour des motifs différents, iatromécanicistes purgent et saignent autant que les galénistes orthodoxes.

François BOISSIER DE SAUVAGES, le plus célèbre des iatromécaniciens français (1706-1767) attribue l'inflammation à un surcroit de frottement dans les vaisseaux capillaires.

Cependant, l'école iatromécanique devait trouver difficilement accès en France où régnaient les idées chémiatriques. Ce système, fondé par François DE LA BOE dit SYLVIUS, appliquait la chimie à toutes les branches des Sciences naturelles. Seuls les principes chimiques peuvent expliquer les maladies : "On ne peut supposer un seul changement dans le mélange des humeurs qui ne soit la suite de la fermentation".

Partisan de la théorie alors dominante des atomes, Jacques LE MORT (1696), professeur de chimie à Leyde, combatit la théorie

de la fermentation. Ses idées qui tenaient le milieu entre celles des mécaniciens et celles des chimistes furent défendues par Henri SCHUELLER (Leyde 1705). Ce dernier dériva l'inflammation de l'irritation des particules éthérées des humeurs sans que l'épaississement ni la fermentation soient pris en considération.

Si malgré les efforts réunis de plusieurs, l'école iatromathématique ne réussit pas en France, il n'en est pas de même dans les autres pays européens et surtout l'Angleterre.

Bryan ROBINSON, médecin à Dublin vers 1719, opposa une objection des plus fortes à la théorie de l'inflammation que PITCARN et BOERHAAVE avaient imaginée. Il réfutait l'opinion erronée que lorsque les tubes sont obstrués, le fluide est chassé avec plus de force vers le lieu de la résistance. Il assura au contraire que l'écoulement se fait plus rapide dans les canaux quand ils sont libres.

STAHL (1660-1734), contemporain de BOERHAAVE, mais rallié aux idées animistes de l'époque, fait intervenir dans la stase une contraction locale des vaisseaux. Cette contraction, indépendante de celle du coeur est commandée comme elle par le "mouvement" qui dépend de l'âme. Il faut préciser que celle-ci, "principe immatériel" est définie non seulement comme une entité pensante mais aussi comme force végétative.

Une nouvelle secte mécanico-dynamique fit son apparition avec HOFFMANN de Halle (1660-1742) adversaire de STAHL. Pour supprimer ce recours continuel à l'âme, il fallait démontrer l'existence de forces particulières inhérentes à la matière. Fruit des idées philosophiques de LEIBNITZ, ce système nie le principe d'une âme distincte de la matière. L'activité des organes qui est sous l'influence de l'âme ou "éther" est attribuée à un fluide actif présent dans le sang. Ce fluide éthéré est secrété par le cerveau puis distribué au moyen des nerfs. C'est par son intermédiaire que l'âme agit sur le corps. "Les inflammations

proviennent de spasmes qui suspendent la circulation dans une partie du corps et chassent le sang avec impétuosité dans une autre. Il pénètre alors dans des vaisseaux normalement destinés aux humeurs séreuses, s'y accumule, provoque douleur, gonflement et chaleur."

Jean de GORTER (Amsterdam 1737) admet un principe intérieur qui préside aux fonctions du corps. Ce principe est distinct de l'âme car il existe chez les plantes; il est également différent du fluide nerveux. GORTER lui donne le nom de "mouvement vital". Le premier après VAN HELMONT, il démontre que l'inflammation ne provient pas d'une congestion mais de l'irritation des vaisseaux "doués de l'esprit vital, l'action accrue d'un vaisseau artériel dirige le sang avec force dans les vaisseaux blancs". De cette théorie, naquirent les doctrines de HALLER, FABRE, et plus tard HUNTER et BICHAT qui toutes admettent une exaltation de la vitalité des capillaires.

Pour VON HALLER (1708-1717) le fonctionnement des organes n'est pas influencé par des "esprits vitaux" à moitié matériels mais plutôt par la force nerveuse et l'irritabilité. Il étudie tout spécialement celle des vaisseaux mais ne pense pas que son "exaltation puisse chasser le sang vers les parties enflammées. La congestion sanguine serait plutôt due au rétrécissement des vaisseaux, symptôme particulier de l'inflammation, elle n'en est pas la cause."

Quant à Pierre Antoine FABRE, Professeur à Paris, il s'exprime d'une manière encore plus précise. Il réfute totalement la théorie mécanique de l'inflammation. Celle-ci a pour origine une irritation accrue du système vasculaire et non l'obstruction des vaisseaux. De ses observations microscopiques sur les grenouilles, il conclut que le sang n'obéit à aucune loi circulatoire dans les vaisseaux capillaires et que les humeurs ne s'y "épaississent" pas. La maladie ne peut donc être guérie que par

l'éloignement ou la destruction de la substance irritante.

Le célèbre savant anglais John HUNTER dans un traité auquel on se réfère encore, décrit en 1795 avec beaucoup de précisions les quatre signes de l'inflammation. Il attribue en particulier la rougeur à un afflux plus considérable de sang qui entraine une augmentation de calibre des petits vaisseaux et un accroissement du nombre de ceux qui deviennent perméables au sang. Il établit la distinction entre les inflammations adhésive et suppurative et prétend que l'inflammation est plus violente dans les parties les plus proches de la surface du corps.

La même année, Joachim Diétrich BRANDIS (Hanovre) affirme que l'inflammation n'a son siège que dans le tissu cellulaire. Elle s'accompagne d'une modification chimique qu'il nomme "opération phlogistique".

A la fin du XVIIIème Siècle, deux théories principales s'affrontent : la première cherche à démontrer l'existence dans le système circulatoire d'une force de contraction indépendante du coeur, mais comment la concilier avec la réplétion et la turgescence des parties enflammées ? Pour réfuter l'objection on invoque une dilatation active qui appelle le sang et entraine parfois même une inversion du courant circulatoire. La seconde ne reconnait avec VACCA (Florence 1765) dans la dilatation capillaire qu'un état d'atonie et de relâchement qui apparaît à tous les stades de l'inflammation.

De même LUBLOCK (Norwich 1789), ALLEN et HALLEN affirmaient l'existence d'une diminution de la résistance des capillaires enflammés et une incapacité pour eux de s'opposer à un afflux brusque de sang.

Avec l'abandon des systèmes médico-philosophiques : animisme, vitalisme, humoralisme, le début du XIXème Siècle marque le passage de la médecine ancienne à la médecine moderne.

Il y eut des précurseurs et des attardés tel Georges WEDEKIN qui publie à Leipsick en 1791 une théorie de l'inflammation dans laquelle il attribue cette maladie aux particules âcres et putrescibles du sang. Il soutient que celui-ci tombe réellement en dissolution dans les phlegmasies, que le pus se forme toujours dans le tissu cellulaire, jamais dans les vaisseaux, et met en doute les inflammations chroniques.

BICHAT (1771-1802) dans son traité d'anatomie générale décrit avec précision le mécanisme de l'inflammation déduit de ses observations. Il infirme les idées de BOERHAAVE : l'accumulation de sang dans les vaisseaux capillaires n'est pas la cause immédiate de l'inflammation. Elle n'en est que l'effet, un effet secondaire. Le phénomène principal, cause de tous les autres, c'est l'irritation locale qui altère la sensibilité organique. Pour lui, il est évident que ce sont les solides qui jouent le premier rôle dans l'inflammation. A l'inverse des auteurs de son temps, et s'appuyant toujours sur sa propre observation il dénie toute action à l'influx nerveux. Bien que le rôle de ce dernier soit connu et décrit par ailleurs, il est pour lui presque entièrement nul dans le processus inflammatoire.

XIXème Siècle

Vers 1837, ce sont à nouveau deux doctrines diamétralement opposées qui se partagent l'opinion. Dans l'une, on subordonne tous les phénomènes inflammatoires à une modification vitale particulière : "l'irritation" définie par BROUSSAIS comme "la contraction portée au delà de certaines limites" théorie générale et absolue. BROUSSAIS impuissant à se dégager de l'esprit de système, réduit tout à un processus commun élémentaire quelques soient les lésions ou les troubles fonctionnels.

Dans l'autre, au contraire, on imagine d'isoler et de considérer comme tout à fait indépendante chacune des modifications

organiques que l'on avait réunies pour en faire l'entité nommée inflammation, la rougeur par exemple fut étudiée sous le nom d'hyperhémie etc.

Cependant, les partisans d'un état morbide particulier restent nombreux. Le traitement à l'époque comporte trois points essentiels :

1° modérer l'afflux du sang vers le foyer inflammatoire. Pour cela il faut d'une part, écarter de la partie malade les causes qui provoquent et entretiennent cet état, notamment la douleur, nouveau stimulus qu'il importe de combattre. On emploie calmants et sédatifs. D'autre part, selon l'engorgement des capillaires on discute l'opportunité des évacuations sanguines locales ou générales.

2° rendre aux capillaires leur fonction normale. Quand le phénomène est intense, modérer l'afflux sanguin ne suffit pas pour que la circulation reprenne un cours régulier, un traitement tonique peut devenir nécessaire : application de topiques dits répercussifs, agents irritants variés. Leur emploi successif modifie le courant circulatoire comme le montrent les observations au microscope.

3° faciliter la résorption des"sécrétions accidentelles" grâce aux médications excitantes. La cessation complète du processus inflammatoire exige fréquemment le recours à la révulsion.

En 1844, L.C.H. ROCHE élève de BROUSSAIS décrit dans son manuel de Pathologie médico-chirurgicale, l'inflammation comme une irritation avec appel plus considérable de sang que des autres fluides. "L'irritation consiste en l'augmentation de l'action organique moléculaire d'un tissu au delà des limites compatibles avec l'exercice libre de sa fonction". C'est reprendre la théorie de BROUSSAIS mais comme théorie partielle et relative. Il note que l'irritation est toujours primitivement locale

et qu'elle ne peut exister à la fois dans toutes les parties du corps. Ses causes sont nombreuses et variées : toutes les violences extérieures, les agents irritants, les influences atmosphériques, toutes les affections morales.

Quelques années plus tard, dans son traité de Pathologie interne GRISOLLES (1851) déclare que l'inflammation diffère de l'irritation mot qui pendant 15 ans a fait la fortune d'un système : "ces idées aujourd'hui vieillies d'un siècle ne peuvent plus que figurer dans l'histoire des erreurs de la Science... Aujourd'hui on ne doit plus se servir du mot irritation qui n'indique rien de précis et avait servi à un homme prodigieux à révolutionner toute la médecine". Les saignées générales et locales restent la base de la médication antiphlogistique, moyen puissant, GRISOLLES précise qu'il peut être dangereux et on en abuse facilement.

Vers les années 1830-1860 une notion vint révolutionner le problème de l'inflammation, celle de la cellule. SCHLEIDEN (1804-1881) puis les anatomistes SCHWANN (1810-1882) et Johannes MULLER (1834) avaient entrevu l'importance de la cellule découverte grâce au microscope. En 1858 la parution de la "Pathologie cellulaire" livre demeuré célèbre de Rudolf VIRCHOW rassemble en une doctrine tous les résultats des recherches jusque là éparses. Le succès du livre fut important. Le phénomène essentiel de l'inflammation serait pour VIRCHOW l'irritation, qui agit sur les cellules de la partie malade. Ces cellules réagissent, montrent une certaine "irritabilité" terme employé dans un sens différent de celui admis depuis HALLER, c'est à dire comme nous l'avons vu, une sensibilité entrainant la contractilité. VIRCHOW pense que toute agression extérieure à la cellule entraine pour celle-ci une augmentation de son activité, notamment de sa nutrition. L'hyperhémie permettrait alors un apport plus grand de substances assimilables. L'exsudation constatée n'est qu'une exagération

de la transsudation sanguine; quant aux éléments cellulaires néoformés qui font leur apparition, ils proviennent de cellules préexistantes dans le tissu enflammé : "Omnis cellula a cellula". En résumé, il existe une irritation normale, physiologique et une irritation inflammatoire qui n'est qu'un processus normal exagéré.

En 1844 HENLE avait découvert les fibres musculaires lisses des artères, ainsi fut expliqué le changement de calibre des vaisseaux constaté au microscope sur la membrane interdigitale de la grenouille lors d'une irritation : resserrement bref puis dilatation. Ces observations sur membranes vivantes irritées avaient également montré autour des vaisseaux une accumulation de "globules". Nous avons dit que VIRCHOW y voyait des cellules nées sur place, mais WALLER en 1846 avait déjà pu suivre l'émigration d'éléments du sang (globules blancs) vers les tissus avoisinants. CONHEIM en 1866 compléta ces données et observa la traversée de globules blancs à travers la paroi des capillaires. Il donna à ce phénomène le nom de "diapédèse", l'un des processus essentiel de l'inflammation.

Dans une suite de travaux publiés de 1884 à 1886, METCHNIKOFF entreprit de démontrer que la lutte entre le globule blanc et le microbe était le centre de l'inflammation. Il s'appuyait pour cela d'une part, sur sa conception du leucocyte capable de "manger", de phagocyter le corps étranger. D'autre part sur les idées alors dominantes depuis PASTEUR sur le rôle essentiel de l'agression microbienne dans l'inflammation. VIRCHOW n'admettait pas cette possibilité; malgré l'influence considérable de la théorie de METCHNIKOFF en Pathologie, les idées commencèrent à évoluer à partir de 1886. On put démontrer que des corps irritants peuvent produire également des inflammations typiques ceci en dehors de toute action microbienne : ainsi l'essence de Térébenthine, l'huile de Croton et certaines substances organiques complexes "les ptomaines issues de la dé-

composition de cellules (Armand Gautier, 1886 cité par A.POLICARD).

Plus tard, en procédant à des irritations diverses, physiques ou chimiques, totalement étrangères au microbe incriminé, REILLY a reproduit en laboratoire avec beaucoup d'exactitude, des troubles similaires aux troubles provoqués par une intoxication d'origine bactérienne. Ces expériences ont contribué à affaiblir le principe de la spécificité des maladies infectieuses.

Ainsi, grâce à certaines conceptions récentes, la théorie de l'inflammation non spécifique trouve une sorte de justification.

Le syndrome général d'adaptation groupant les réponses non spécifiques : réactions d'alarme puis d'adaptation communes à la plupart des agressions exogènes ou endogènes semble se rapprocher à certains points de vue de cette "Phlegmasie" réponse générale, commune à toutes les maladies si bien individualisées qu'elles puissent paraitre cliniquement et anatomiquement.

C'est le commencement d'un retour à la sagesse traditionnelle d'un HIPPOCRATE qui affirme : "Dans la médecine tout est un, un est tout". Réaction contre la tendance dissociative sous l'influence de laquelle le médecin ne s'intéresse plus à l'Homme comme à un tout, décrit des maladies individualisées et soigne par des médications fragmentaires : thérapeutique du contraire, symptomatique, que l'efficacité et les indications multiples des produits anti-inflammatoires, apparemment pathogéniques, paraissent devoir évincer. L'Inflammation au sens large du terme aurait plus d'importance que ses causes habituelles.

*

*  *

Ce bref rappel historique nous a montré que la connaissance de l'inflammation remonte à l'antiquité la plus lointaine. L'Homme s'est aperçu qu'on pouvait observer dans les conditions les plus variées, soit spontanément, soit à la suite d'un traumatisme, l'apparition des mêmes phénomènes. Les théories les plus compliquées et les plus invraisemblables firent leur apparition pour expliquer le mécanisme, le "pourquoi" de l'inflammation. Après les piétinements des premières observations, les progrès de l'expérimentation, l'acquisition de notions plus précises sur la constitution et le fonctionnement des organes ont permis de préciser ce mécanisme.

Compte tenu des derniers travaux expérimentaux et de la connaissance actuelle que nous avons de l'inflammation, il nous semble possible de la définir comme un "phénomène général chez les êtres vivants, lié à un couple réactif conditionné par "l'agent agresseur" et par la sensibilité du récepteur.

# - II -

# M E C A N I S M E  D E  L' I N F L A M M A T I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

"Quand en un point donné, des tissus sont devenus la proie d'une irritation ou d'une infection, se trouvent déclenchés dans la trame conjonctive qui leur appartient, toute une série de phénomènes".

Cette agression dont l'agent peut être de nature variée, soit chimique, physique ou microbien va entraîner tout d'abord des :

## REACTIONS VASCULAIRES

I - UNE VASO-DILATATION DES CAPILLAIRES ET UNE AUGMENTATION DE LEUR PERMEABILITE. Cette vaso-dilatation se traduit par l'apparition d'un érythème. La peau devient rouge et chaude. Une stase capillaire accompagne cette dilatation. Peu après, du liquide séreux traverse la paroi des vaisseaux et distend les tissus avoisinants constituant un oedème. Ce liquide est constitué par de l'eau, des électrolytes mais aussi de molécules protéiques.

Ce passage des protéines plasmatiques à travers la paroi des capillaires est un phénomène anormal, résultat d'une augmentation de la perméabilité de ces vaisseaux. Celle-ci peut être mise en évidence d'une façon simple grâce à la propriété qu'ont

des molécules de matière colorante (bleu evans, bleu trypan etc..) de se fixer sur une protéine. Si on injecte ce colorant dans la circulation veineuse d'un animal, on constate son accumulation rapide en un point où siège une réaction inflammatoire, teintant ainsi la zone lésée.

Ces différents phénomènes seraient sous la dépendance de médiateurs chimiques (bien que leur rôle soit encore incomplètement élucidé). Plusieurs substances semblent ainsi responsables de la formation de l'oedème inflammatoire.

1. Histamine. Son rôle ne s'exercerait qu'au tout premier instant du phénomène inflammatoire et paraît transitoire. L'hypothèse de l'histamine comme facteur d'oedème inflammatoire avait été envisagée puis rejetée. Son pouvoir d'augmenter la perméabilité capillaire apparaît actuellement certain et a été maintes fois vérifié expérimentalement par les techniques les plus diverses. Sa présence dans les foyers inflammatoires ne saurait être mise en doute. D'autre part, l'expérimentation a montré que si l'on injecte de façon répétée des doses fortes d'histamino-libérateurs à des animaux, les réactions qu'ils développent deviennent de moins en moins oedémateuses. Enfin, les antagonistes de l'histamine agissent sur ce phénomène.

Certains auteurs pensent que l'histamine décelée dans un foyer inflammatoire aurait pour origine la destruction des leucocytes venus par diapédèse. Les premiers agents stimulant l'inflammation paraissent provenir de la dégénérescence protéolytique de quelques cellules, ce qui libère des substances protéiques à effet histamino-mimétique. Le problème n'est pas entièrement résolu.

2. 5 hydroxytryptamine ou sérotonine souvent retrouvée dans les foyers inflammatoires et bien que présentant un effet vaso-constricteur est également génératrice d'oedème. Son rôle

bien que passager dans la production de l'oedème inflammatoire paraît certain pour de nombreux auteurs et son action plus intense que celle de l'histamine.

3. Leukotaxine, isolée par MENKIN. C'est une substance thermostable, un "polypeptide relativement simple". A la suite de la découverte de MENKIN, de nombreux travaux furent entrepris sur les polypeptides. MENKIN lui-même a trouvé un nouveau principe actif, l'exsudine en partant d'exsudats non plus alcalins, mais acides. Le pouvoir de ces polypeptides sur la perméabilité capillaire est établi de façon certaine. Cependant, il ne semble pas que ces corps soient présents dans les foyers inflammatoires à taux suffisant pour qu'ils puissent entrer en action. Peut-être n'apparaissent-ils qu'au cours de leur extraction (A. DELAUNAY et S. BAZIN).

4. Facteur de perméabilité : PF. Ce facteur serait une $\alpha_2$ globuline relativement thermostable, découverte dans les sérums frais et normaux de cobayes. Fugace, son action sur la perméabilité des petits vaisseaux serait aussi remarquable que celle de la leukotaxine, de l'histamine. Les travaux de A.A. MILES et D.A. WILHEM ont permis d'énoncer les faits suivants : ce facteur PF ne se trouverait dans les sérums que sous une forme inactive pro PF à côté de laquelle existerait un inhibiteur IPF. Ce système a pu être mis en évidence chez la plupart des mammifères ainsi que dans les sérums humains mais sous la forme d'une $\beta_1$ globuline. MILES et WILHEM estiment qu'il pourrait exister également d'autres facteurs de perméabilité à côté de leur PF.

5. Un nouveau médiateur extrait récemment des cellules des ganglions lymphatiques par WILLOUGHBY et dont l'accumulation a pu être décelée dans les points où se développe une réaction inflammatoire, cause un accroissement de la perméabilité vascu-

VALY MENKIN 1959

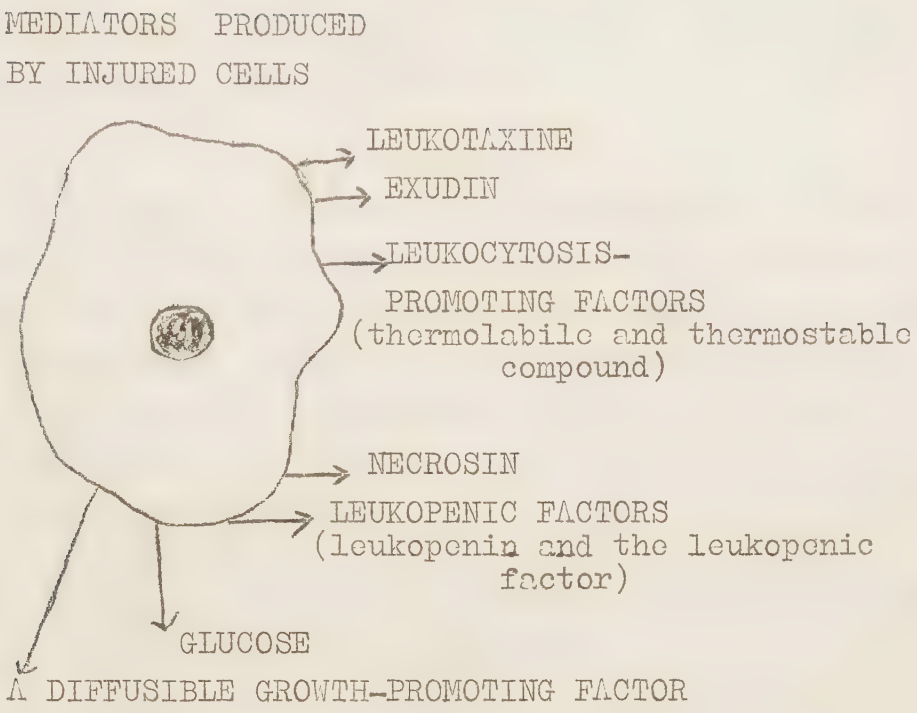
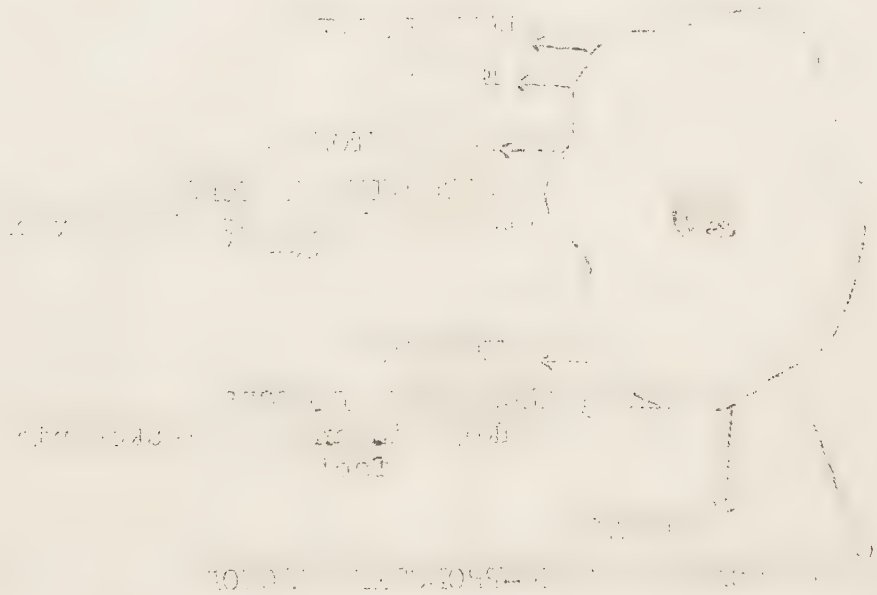



Diagramme to exemplify the libration of active mediators from injured cell at the site of inflammation

(in Biochemical features in Inflammation)

VIe Congrès International de Thérapeutique
Strasbourg 1 - 2 et 3 Octobre 1959



laire. Cet effet a pu être différencié de l'action de beaucoup d'autres facteurs de perméabilité par des vérifications pharmacologiques parallèles et il n'apparait pas devoir son activité à la présence d'histamine.

II - DIAPEDESE. C'est le passage des globules blancs du sang à travers la paroi endothéliale des petits vaisseaux. Elle accompagne la filtration plasmatique provoquée par la modification de la perméabilité capillaire. Expérimentalement, elle peut être provoquée par des substances d'origine tissulaire ou des substances d'origine microbienne. Parmi ces dernières : tous les constituants de la cellule bactérienne et principalement les substances polysaccharidiques simples ou complexes ainsi que les nucléo-protéines bactériennes. La plus connue des substances d'origine tissulaire est la leukotaxine.

Le glycogène doit également être classé parmi les corps susceptibles de provoquer une diapédèse intense, ce qui du reste semble être une action commune à la plupart des corps polysaccharidiques.

D'action plus faible, nous pouvons cependant encore citer les substances à petites molécules (sucres, acides aminés).

En résumé,il semble que l'on puisse préciser que diapédèse et oedème inflammatoire ne sont que secondaires à des phénomènes vasomoteurs mais que ceux-ci sont insuffisants à les déclencher à eux seuls. D'autre part, s'il est incontestable que diapédèse et production d'oedème sont deux réactions qui peuvent être produites expérimentalement par un seul facteur (leukotaxine de MENKIN) ils constituent deux processus qui peuvent être dissociés dans le temps et on arrive à déclencher l'un sans l'autre.

## REACTIONS CELLULAIRES

Elles apparaissent dans la trame conjonctive lorsque les phénomènes vasculaires tendent à diminuer d'intensité. Ces modifications cellulaires sont très complexes.

Deux ordres de phénomènes peuvent dominer; soit destructifs (suppuration, nécrose) soit constructifs (formation d'un tissu de granulation).

Quoiqu'il en soit, les réactions cellulaires vont débuter par une multiplication intense des cellules du tissu conjonctif avoisinant, elles entrent en activité et vont participer au processus réactionnel. Ces cellules vont se modifier, perdre leurs prolongements, s'arrondir et se multiplier.

Dans le tissu conjonctif enflammé apparaît alors un nouvel élément : le macrophage. De grande taille (75$\mu$), c'est une cellule mobile douée d'une grande sensibilité chimiotactique et d'une propriété phagocytaire très prononcée. La réaction macrophagique dure pendant plusieurs semaines dans le cas d'une infection transitoire (staphylococcique par exemple) puis elle s'atténue et disparaît. Quand l'infection devient chronique la réaction peut se prolonger indéfiniment. Grâce à différents travaux on a pu démontrer que le macrophage n'est qu'une forme particulière que peuvent prendre beaucoup de cellules. Il peut se différencier à partir des histiocytes, des monocytes du sang, des fibroblastes, des cellules endothéliales et même des cellules épithéliales et musculaires.

En même temps, les mucopolysaccharides et le collagène, constituants essentiels de la trame conjonctive vont subir d'importantes modifications; les fibres collagènes vont se multiplier constituant un épais feutrage, la substance fondamentale va également subir des transformations.

## EVOLUTION DU FOYER INFLAMMATOIRE

Pendant un certain temps, le processus va évoluer, puis vont apparaître de nouvelles modifications. La densité des fibres collagènes diminue, les fibroblastes sont moins nombreux, les cellules endothéliales entrent en activité et des néo-vaisseaux font leur apparition. Ainsi se constitue le "tissu de granulation", tissu très vascularisé qui va permettre la régénération des parties nécrosées par des bourgeons charnus. De la transformation conjonctive de ces derniers résulte le tissu cicatriciel. Les vaisseaux néo-formés disparaissent, la substance fondamentale est plus homogène, il se forme un tissu très dense pauvre en cellules, presque entièrement dépourvu de vaisseaux. La cicatrisation arrive à son terme et le processus s'arrête. Son évolution semble conditionnée par deux sortes de facteurs : intrinsèques et hormonaux. Parmi ces derniers, les hormones corticoïdes qui exercent une action cellulaire, l'hormone somatotrope qui agit sur la substance fondamentale et les fibres collagènes.

Nous avons vu que le tissu de granulation évolue en général vers la cicatrisation, mais la réaction inflammatoire peut également devenir chronique. Elle est alors caractérisée par l'absence de phénomènes exsudatifs. Il existe une prolifération importante des éléments tissulaires et des modifications biochimiques profondes de la substance fondamentale aboutissant à la formation d'un tissu scléreux.

## BIOCHIMIE DE LA TRAME CONJONCTIVE ENFLAMMEE

I - MODIFICATION DU TAUX DES MUCOPOLYSACCHARIDES. Le taux des mucopolysaccharides normalement présents dans le tissu sain augmente rapidement en cas d'inflammation. En moins d'une heure, on note la présence de granules dans les fibroblastes, puis du 1er au 6ème jour, l'augmentation apparait dans la trame

conjonctive. Selon le type d'inflammation et les différents tissus lésés, il existe des variations concernant la rapidité avec laquelle les mucopolysaccharides augmentent. Cette élévation de leur taux est maximum au moment où les fibroblastes se multiplient le plus activement. Les résultats observés sont fondés sur le dosage des hexosamines. Le taux des mucopolysaccharides peut tripler en 24 heures, il atteint et peut parfois dépasser quatre fois les valeurs normales. Secondairement, vers les 8ème, 10ème jour, il existe une diminution progressive des mucopolysaccharides qui accompagne le développement des fibres de réticuline et de collagène. Le retour à la normale se fait vers le 17ème jour.

On a pu distinguer des mucopolysaccharides neutres et des mucopolysaccharides acides parmi lesquels les mucopolysaccharides sulfatés comme l'acide chondroïtine sulfurique et les mucopolysaccharides non sulfatés comme l'acide hyaluronique.

L'accroissement des mucopolysaccharides n'est pas toujours du même ordre et les différents mucopolysaccharides n'augmentent pas de la même façon. On a pu les séparer en deux groupes en fonction de leur solubilité dans une solution physiologique (tampon pH 7,8). C'est la fraction des mucopolysaccharides solubles qui s'élève le plus fortement. La fraction insoluble augmente aussi mais moins nettement et avec des modalités qui diffèrent selon les divers mucopolysaccharides.

Enfin, les carences ou surcharges en vitamines (avitaminose C) et hormones semblent pouvoir modifier de façon assez importante l'élévation normale des mucopolysaccharides au cours du processus inflammatoire.

II - MODIFICATION DU TAUX DU COLLAGENE. Au cours de la phase aigue d'une réaction inflammatoire, il existe et plus encore quand la nécrose apparaît, une destruction plus ou moins importante (perte véritable ou "appauvrissement relatif") du collagène préexistant.

Les études biochimiques ont permis de constater l'existence de collagène insoluble et de collagènes neutro-soluble et acido-soluble. Le taux de collagène va s'élever à nouveau plus ou moins rapidement et évoluer de façon différente selon le type d'inflammation (processus à évolution lente ou rapide). Des divergences peuvent être mises en évidence selon le tissu atteint, la cause de l'inflammation etc...

Comme pour les mucopolysaccharides, vitamines et hormones régularisent la formation du collagène dans les foyers inflammatoires.

III - MODIFICATION DU TAUX DES PROTEINES NON FIBRILLAIRES. Ce groupe de substances de connaissance récente a été particulièrement étudié par S. BAZIN et A. DELAUNAY.

Le taux de ces protéines a été évalué en déterminant le taux de la tyrosine, (la quantité de tyrosine présente dans le collagène étant négligeable par rapport à celle contenue dans les protéines non fibrillaires). On a pu comme pour les mucopolysaccharides distinguer des protéines solubles dans des solutions de pH et de concentration physiologique et des protéines insolubles. Dans les deux types de réaction inflammatoire étudiés les protéines non fibrillaires sont plus abondantes que dans le tissu sous-cutané normal mais comme le collagène leur taux respectif évolue différemment selon que le foyer inflammatoire est d'évolution rapide ou lente.

Si des progrès certains ont été réalisés dans l'étude des processus inflammatoires, les mécanismes propres de l'inflammation ne sont cependant pas encore totalement connus et le problème du stimulus initial responsable du déclenchement de la réaction inflammatoire reste encore à résoudre.

# - III -

# M O D E L E S  E X P E R I M E N T A U X  D' E T U D E

# D E  L' I N F L A M M A T I O N

## ETUDE DE LA REACTION INFLAMMATOIRE

Plusieurs facteurs sont en présence au cours du processus inflammatoire expérimental qui vont influencer la réaction et présider au choix de l'expérimentateur.

a) animaux d'expérience

Le choix de l'animal sur lequel va agir l'agent inflammatoire va conditionner en partie le résultat final que l'on va observer et mesurer.

1. l'espèce. Parmi les espèces les plus couramment employées, citons le Rat, le Cobaye, le Lapin, mais il est évident qu'aucune espèce animale ne possède les qualités requises pour devenir le "substrat" idéal comparable à l'homme.

Une remarque importante peut être faite. Pour un même modèle inflammatoire, la réaction se comporte différemment suivant l'espèce animale en expérience.

Ainsi l'irradiation ultra-violette de la peau entraine l'apparition d'un érythème chez le Cobaye, tandis que chez le Rat, on constate après un temps de latence assez long, l'existence d'une nécrose épithéliale.

De même, si l'injection d'une solution de carragénine provoque chez le Rat une inflammation aigue et violente (BENITZ et HALL) la réponse inflammatoire du Cobaye a une allure beaucoup plus chronique (ROBERTSON et SCHWARTZ).

Enfin, il est maintenant possible de dire que maintes réactions inflammatoires, notamment les réactions anaphylactiques, ne sont pas uniquement déterminées par une libération tissulaire locale d'histamine. D'autres substances sont également libérées par l'organisme au cours du processus inflammatoire comme la sérotonine, la leucotaxine etc... Le taux de ces substances contenues dans les différents organes et qui sont susceptibles d'apparaître au cours d'une agression, varie suivant les espèces animales. On voit donc qu'il est difficile de juger correctement de l'intérêt d'un modèle en se basant uniquement sur les résultats obtenus chez une même espèce puisque les réactions peuvent être très dissemblables vis à vis d'un même facteur d'agression.

2. Souches et lignées. Comme pour les animaux d'espèce différente, dans une même espèce et dans des conditions expérimentales tout à fait semblables, pour un lot apparemment homogène, les animaux agressés par une substance donnée ne vont pas tous réagir de façon similaire.

L'importance des facteurs génétiques a été démontrée, et il est souvent préférable de se servir d'animaux de même souche. Souche pure pour les animaux d'expérience et pour les témoins, les lignées sont obtenues et sélectionnées par croisements endogéniques.

R. MARCY remarque que la méthode du granulome à poche d'air de SELYE donne souvent des résultats inconstants et pense que vraisemblablement le développement du pneumoderne est conditionné par la race des rats utilisés et ceci de façon importante.

3. l'individu. Trois facteurs jouent un rôle important quant à la résistance d'un animal à une agression : l'âge, en général, les adultes sont moins sensibles aux inoculations que les jeunes animaux. Ordinairement au cours d'une étude expérimentale, on utilise des animaux ayant le même poids car il est difficile de déterminer leur âge exact, sauf s'ils sont issus d'un élevage connu; mais même à poids égal, les causes d'erreurs ne sont pas négligeables.

les conditions de vie. En liberté, la résistance des animaux est accrue. L'élevage en laboratoire, dans des espaces limités entraîne une augmentation de sensibilité et en cours d'expérimentation, la comparaison des résultats doit être pratiquée sur des animaux ayant le même mode de vie. De même la température doit être maintenue constante, ses variations entraînant des accidents.

mais plus important encore est le rôle de l'alimentation dans la réceptivité des animaux aux différentes infections. R.J. DUBOS (cité par P. LALLOUETTE) a décrit, à la suite d'un régime déséquilibré, une infection léthale par le Bacille de CALMETTE et GUERIN chez les souris,alors que celles-ci n'y sont normalement pas sensibles (1). La résistance des sujets est également diminuée en cas de carence vitaminique. Certains auteurs ont montré l'influence de la carence en Vitamine B 12 et acide folique sur l'activité du complément, la composition cellulaire de la moëlle osseuse, du sang périphérique et de l'exsudat inflammatoire, donc son influence sur les moyens de défense de l'organisme. Il a été également observé que des lapins carencés en Vitamine A faisaient des lésions tuberculeuses beaucoup plus importantes que les témoins, il en est de même pour des cobayes carencés en Vitamine C. Chez des rats carencés en Vitamine B6 on

(1) F. GRUNBACH a cependant montré que le Bacille de CALMETTE et GUERIN était pathogène (lésions rénales principalement) pour la souche de souris T B (RIST et GRUNBACH) par voie intra-veineuse.

remarque une prolifération de bacilles de Koch plus abondante que chez les témoins. Toutes ces observations confirment l'importance de l'équilibre alimentaire et son rapport avec la réponse des animaux aux infections.

Le terrain endocrinien. Il est certain actuellement, que le terrain endocrinien conditionne de façon importante la réponse de l'organisme aux infections et que des résistances diverses puissent être imputées à un état hormonal différent. Ainsi, la surrénalectomie supprime l'inhibition par les salicylés de l'oedème du Rat à l'ovalbumine sans pourtant affecter leur action anti-histaminique.

Il a été aussi démontré que les animaux surrénalectomisés ou hypophysectomisés développent plus facilement que les animaux normaux des arthrites à la suite d'un traitement prolongé par la désoxycorticostérone, l'extrait anté-hypophysaire et la somatotrophine.

JASMIN et DUBOS ont provoqué une inflammation de l'articulation tibio-tarsienne au bout de trois semaines de traitement avec de la prolactine associée à la somatotrophine chez des rats surrénalectomisés ou hypophysectomisés. Il semble à peu près certain que la déficience en hormone cortico-surrénalienne influence la formation de cette arthrite expérimentale.

b) agents inflammatoires

Ils sont nombreux et nous les retrouverons dans la description des différents modèles expérimentaux d'inflammation. Nous pouvons distinguer :

les agents des irritations mécaniques

par implantation sous-cutanée :
- . coton
- . éponges plastiques
- . amiante
- . agar
- . kaolin

par injection dans l'articulation d'une patte arrière du Rat

. kaolin
. carragénine

production d'un abcès chez le Rat

. carragénine

test sur iléum de Cobaye

. carragénine

production d'une péritonite

. spores de Lycopode

les agents physiques

. Brûlures électriques
. Irradiation ultra-violette : production d'un érythème chez le Cobaye
exposition de rats
exposition de souris pour mesurer la perméabilité capillaire.

les agents chimiques

- soude : application locale
- nitrate d'argent : pleurésie et péritonite exsudative
application locale
production d'une arthrite chez le Rat
- formol : injection sous-cutanée
pleurésie exsudative
péritonite exsudative
- lugol : péritonite exsudative
- vapeurs toxiques d'acroléine : pneumonie chez la Souris
- essence de térébenthine : injection sous-cutanée
- huile de térébenthine : injection sous-cutanée
- dextran : réaction inflammatoire anaphylactique par voie intra-péritonéale
injection sous-cutanée dans la patte du Rat

- subtosan : injection sous-cutanée dans la patte du Rat
- sérotonine : injection sous-cutanée dans la patte du Rat
  production d'une arthrite chez le Rat
- bradykinine : injection sous-cutanée dans la patte du Rat
  bronchoconstriction chez le Cobaye
- histamine : injection sous-cutanée dans la patte du Rat
  irritation sous-cutanée locale
- streptokinase : injection sous-cutanée dans la patte du Rat

les agents biologiques

- extrait de moutarde : injection sous-cutanée chez le Rat
- huile de croton : injection sous-cutanée (poche de Selye)
  application sur oreille de lapin
- levures : injection sous-cutanée dans la patte du Rat
- ovalbumine : phénomène d'Arthus
  réaction inflammatoire anaphylactique chez le Rat
  arthrite chez le Rat
- endotoxine typhique : phénomène de Shwartzmann
- toxines microbiennes : injection sous-cutanée.

## ETUDE DES MODELES EXPERIMENTAUX D'INFLAMMATION SELON LA REACTION

Le principe de cette étude repose sur la reproduction expérimentale d'un processus inflammatoire. Les "modèles" d'inflammation sont innombrables et s'adressent aux divers temps classiques de la réaction : modification de la perméabilité capillaire ; temps d'apparition de l'oedème, modification de son intensité, modifications cellulaires et prolifération conjonctive.

Les diverses méthodes décrites consistent soit en l'application sur les téguments ou en l'injection de substances irritantes, l'animal étant ou non sensibilisé (de façon spécifique ou aspécifique); soit en l'insertion de corps étranger dans le tissu cellulaire sous-cutané. Ces différents agents déterminent une réaction inflammatoire et provoquent la libération locale de

substances spécifiques; certaines méthodes emploient l'administration directe de ces substances.

Ces "modèles" primitivement destinés à l'étude de l'inflammation ont été standardisés et employés pour la détermination de l'activité anti-inflammatoire de diverses substances.

Nous envisagerons tout d'abord l'étude proprement dite de ces"modèles". Dans un second temps nous décrirons les différentes façons d'évaluer l'intensité de"l'inflammation" et de comparer son évolution chez des animaux témoins et chez des animaux traités par des substances dont on veut apprécier les propriétés anti-inflammatoires.

## INFLAMMATION PROVOQUEE

a) localement (sur l'animal neuf)

### A - REACTIVITE IMMEDIATE

1. Modèles fondés sur l'appréciation de l'intensité de l'érythème

- WINDER et Collab. emploient les radiations. L'irradiation de la peau du Cobaye entraîne rapidement un érythème tandis que chez le Rat elle détermine une nécrose épithéliale après un assez long temps de latence.

- Une technique employant chez l'Homme l'ionophorèse d'histamine a été décrite par TRONNIER, HOLZMANN et LEYH. Un papier filtre est disposé sur le territoire cutané du pli du coude. On fait couler sur ce papier 0,1 ml d'une solution d'histamine à 1 %. Une ionophorèse de 0,1 mA est ensuite mise en route pendant une minute. Un photomètre à réflexion permet d'évaluer l'intensité de l'érythème pendant les 20 à 40 minutes qui suivent l'ionophorèse.

2. Modèles fondés sur l'étude de l'exsudat plasmatique

Nous l'avons vu, le passage des protéines plasmatiques à travers la paroi des capillaires est dû à l'augmentation de la perméabilité de ces derniers. Si l'on désire déceler rapidement

cette augmentation de perméabilité, on introduit des colorants colloïdaux dans la circulation. En cas d'exsudat, c'est-à-dire dès qu'un processus inflammatoire apparaît, le colorant traverse la paroi capillaire et s'accumule dans le liquide interstitiel, teintant la zone lésée.

a) application locale de substances irritantes sur la peau ou les muqueuses

- WILHELMI dépose une goutte d'huile de croton de dilution correcte sur l'oreille de souris auxquelles on a injecté auparavant une solution de bleu trypan par voie intra-péritonéale. Une coloration bleue apparait à l'oreille au niveau de la zone cutanée irritée.

- AMBROSE et EDS créent une irritation locale par application de chloroforme. Ce test est réalisé chez le Lapin. L'animal d'un poids moyen de deux kilos reçoit 1 ml par kg de poids d'une solution de bleu chicago à 2 %. Ils appliquent 5 minutes après sur la peau de l'abdomen préalablement rasée, un tampon de gaze imbibé de chloroforme. Ce tampon est maintenu en place 30 secondes. On note le temps nécessaire à l'apparition de la réaction oedémateuse objectivée par le colorant. Cette méthode mise au point par les auteurs pour étudier l'action de la rutine sur la perméabilité capillaire a été utilisée pour l'essai des anti-inflammatoires par VAN CAUWENBERGE et LECOMTE d'abord sans changement puis adaptée au Rat.

- WILHELMI et DOMENJOZ badigeonnent avec une solution de dichlorydrate d'histamine à 1,2 % ou 5 % des parties de la peau du dos de cobaye préalablement épilées et érodées. On constate le développement d'une papule oedémateuse mise en évidence grâce à l'injection préalable de bleu trypan.

b) injection intra-dermique des médiateurs de l'inflammation

- BONVALLET et DECOURT injectent chez le chien par voie intra-dermique 0,2 ml d'une solution à 0,01% de dichlorhydrate d'histamine. L'animal a reçu auparavant par voie intra-veineuse 1 ml d'une solution de bleu trypan à 1 %. Quelques minutes après, apparait 1 aureole entourant une tache blanche. Par accumulation de colorant, cette papule devient rapidement bleutée, tache homogène dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de la solution d'histamine. Le maximum de coloration est atteint au bout d'un quart d'heure.

- VAN CAUWENBERGE et LECOMTE ont mis au point cette réaction chez le Lapin. Ils injectent dans le derme de l'animal (de 2 kg environ et ayant reçu par voie intra-veineuse 16 minutes auparavant une solution de bleu chicago) 0,2 ml d'une solution d'histamine à 0,01 %. Le temps d'apparition d'une coloration bleue au niveau du point d'injection est noté.

- On peut également employer la leucotaxine de MENKIN purifiée ou simplement un exsudat inflammatoire où elle est présente. Cet exsudat est obtenu au niveau de la cavité pleurale du chien par injection de 1,5 ml d'essence de térébenthine ou de 0,5 ml d'huile de croton diluée à 5 %. On récolte cet exsudat et on l'injecte ensuite dans le derme de l'abdomen d'un Lapin. L'animal a été épilé au préalable et a reçu par voie intra-veineuse une solution de bleu trypan. On observe une accumulation de colorant au niveau du point d'injection.

3. Modèles fondés sur l'étude de la réaction cellulaire précoce

a) numération des éléments cellulaires inflammatoires

- DOUGHERTY et SCHNEEBELI réalisent un foyer inflammatoire dans le tissu sous-cutané d'une Souris par injection de 0,25 ml

d'histamine, d'un produit pyrogène, d'une solution de gélatine ou de sérum de Cheval chez l'animal sensibilisé. Six heures après, on sacrifie les animaux, on incise la peau, des couches minces de tissu conjonctif sous-cutané sont disséquées dans la zone enflammée. Ces coupes sont étalées sur lame, séchées et colorées. On compte alors le nombre de polynucléaires, de lymphocytes, de fibroblastes, mastocytes et histiocytes par mm2. Cette méthode d'après les auteurs, donne des renseignements quantitatifs et qualitatifs.

4. Modèles fondés sur l'étude de l'oedème

a) Oedème localisé de la région métatarsienne provoqué par une substance irritante

- C'est le formaldehyde (formol du Codex français ou "formalin" des auteurs de langue allemande, soluté aqueux à 35 % de formaldehyde qui semble la substance irritante la plus souvent employée.

- WILHELMI injecte 0,1 ml d'une solution de formol à 75 % chez des rats de 100 à 150 g, DOMENJOZ : 0,1 ml d'une solution de formol à 3 % chez des rats de 150 à 250 g, STENGER : 0,1 ml de formol à 3 % chez des rats de 150 g. Ils obtiennent deux heures après l'injection, un oedème aigu dans la patte, qui persiste 24 à 48 heures.

- D'autres substances comme le kaolin (HILLEBRECHT, GARCET) le blanc d'oeuf (WILHELMI, HILLEBRECHT) le dextran (DOMENJOZ, STENGER) sont également utilisées pour provoquer une inflammation aiguë.

b) Oedème localisé de la région métatarsienne provoqué par un médiateur de l'inflammation

- DOEPFNER emploie l'histamine, 0,1 ml d'une solution à 0,01 % chez des rats de 120 à 170 g et la sérotonine à la même concentration.

- ECKHARDT se sert d'une solution à 0,0025 % de sérotonine.

- STURMER et CERLETTI emploient de la bradykinine synthétique (1 à 100 mg). Ils ont pu observer que l'intensité de l'oedème apparu dans les 30 à 60 minutes qui ont suivi l'injection était proportionnel à la dose.

c) Arthrite aigue expérimentale

- SELYE provoque une irritation locale articulaire responsable d'une lésion inflammatoire en injectant sous l'aponévrose plantaire du Rat 0,1 cc d'une solution de formol à 3 %, deux heures après l'administration, on mesure avec un plethysmomètre l'augmentation de volume de la patte par rapport au volume primitif.

d) Oedème localisé dans des régions diverses

- UNGAR et Coll. créent un oedème de la peau du dos du Cobaye ou du Rat. Leur méthode consiste à injecter par voie intradermique une substance capable de provoquer une inflammation : histamine, sérotonine ou bradykinine. Après un délai variable selon la substance, 1 heure pour l'histamine et la bradykinine, 2 heures pour la sérotonine, on sacrifie les animaux, la zone injectée est disséquée et pesée.

## B - REACTIVITE MIXTE

### 1. Techniques utilisant "les pièges à cellules"

Elles étudient la diapédèse. Les prototypes des "pièges à cellules" furent des éprouvettes de collodion remplies de sang coagulé. Ces éprouvettes furent placées par NAGEOTTE dans la cavité péritonéale des animaux d'expérience lors de ses études sur la substance fondamentale. Des éléments cellulaires pénètrent

dans ces "pièges" et sont ensuite prélevés avec eux très facilement. On emploie actuellement des éponges de gélatine (Spongel) ou de polyvidone (Ivalon).

- COSTE, DELBARRE et BASSET-LACRONIQUE utilisent un bloc d'éponge Ivalon de 6 mm de diamètre et de 2 mm d'épaisseur stérilisé par ébullition dans l'eau, essoré et séché sous vide. L'éponge est implantée aseptiquement sous la peau de la région lombaire d'un Rat de 100 g environ; l'incision cutanée est refermée avec des agrafes de Michel. Vingt-quatre heures plus tard, l'implant est prélevé avec la membrane conjonctive qui l'entoure. Il est sectionné en deux. Une partie est placée sur une sorte de diaphragme en verre à l'extrémité supérieure d'un tube à hémolyse. On arrose l'implant avec 0,3 ml de sérum physiologique et on centrifuge le tube à 3 000 tours/minute pendant cinq minutes. D'après les auteurs, le fragment d'éponge ne contient alors plus ni liquide, ni cellules. Le liquide obtenu après la centrifugation est agité pour remettre le culot en suspension, on prélève alors ce liquide avec une pipette à globules blancs et on compte le nombre d'éléments sur une cellule de Nageotte.

L'autre partie est appliquée sur une lame pour faire une empreinte que l'on colore et qui permet d'obtenir le pourcentage des différents éléments cellulaires.

- THIEBLOT et Coll. pratiquent une méthode similaire un peu modifiée. Les rondelles sont prélevées 24 heures après l'implantation et pesées, elles sont ensuite placées dans de petits paniers disposés dans les tubes à centrifuger.

2. Modèles fondés sur la prolifération du tissu de granulation

- BENITZ et HALL injectent par voie sous-cutanée une solution de carragénine à 2 % dans la région médio-dorsale du Rat. Ils observent la formation d'un tissu de granulation analogue au tissu observé par ROBERTSON et SCHWARTZ (cf réactions cellulaires

tardives) mais l'invasion leucocytaire est plus importante et il existe un petit dépôt de fibrine. Le poids de ce granulome est maximum 24 heures après l'injection de carragénine. BENITZ et HALL concluent que chez le Rat, cette substance provoque une inflammation aiguë alors que chez le Cobaye, l'inflammation est chronique.

3. Arthrite expérimentale

S. GARCET a repris la technique de l'arthrite expérimentale mise au point par SELYE avec une substance moins nécrosante que le formol. Après DUCOMMUN, l'auteur emploie le kaolin en suspension aqueuse à 10 %. Il provoque ainsi un oedème accompagné de cyanose et mesure l'intensité de la réaction inflammatoire sur l'augmentation de poids de la patte. Il injecte la suspension de kaolin dans les muscles fléchisseurs métatarsiens de la patte postérieure droite du Rat. Vingt-quatre heures après l'administration du produit, les deux pattes postérieures sont coupées au-dessus de l'articulation; elles sont pesées séparément, la patte gauche sert de témoin.

## C - REACTIVITE RETARDEE

1. Modèles fondés sur les réactions cellulaires tardives

- SELYE a mis au point une technique destinée à étudier dans le temps l'évolution du processus inflammatoire. Le "granulome à poche d'air" induit la formation d'un tissu de granulation à l'intérieur d'un kyste aérique sous cutané. Pour l'obtenir, on injecte 25 ml d'air dans la région lombaire (épilée) d'un Rat blanc. Puis, à l'intérieur de cette poche est vaporisé 1/10° de cc d'huile de croton diluée à 1 % dans de l'huile de maïs. Il se produit une réaction inflammatoire des parois du kyste et une exsudation à l'intérieur. Après un temps variable, le granulome est disséqué et pesé, le liquide d'exsudat mesuré, SELYE a décrit

trois stades, le premier, marqué par des phénomènes de dégénérescence cellulaire et de nécrose. Le second voit la transformation de la réaction inflammatoire aiguë en inflammation chronique. Le troisième est dominé de nouveau par la dégénérescence cellulaire et la nécrose.

- TAUBENHAUS et AMROMIN créent un abcès à l'essence de térébenthine en injectant 0,5 ml de cette substance par voie sous-cutanée dans la région scapulaire du Rat. On prélève les abcès les 4ème, 5ème ou 6ème jour et on procède à leur analyse histologique. Ils sont composés d'une cavité centrale circonscrite par une enveloppe formée en dedans par du tissu nécrosé et un amas leucocytaire et au dehors par un tissu de granulation. Ce dernier est constitué par des couches concentriques de collagène contenant de nombreux fibroblastes et des macrophages.

- MEIER, SCHULER et DESAULLES provoquent une réaction inflammatoire en implantant un tampon d'ouate de 4 à 5 mm et pesant environ 50 mg sous la peau de la région lombaire du Rat. Dix jours plus tard un granulome typique est constitué autour du fragment d'ouate. On le prélève et on le pèse. Son poids donne une mesure de l'importance de la réaction.

- ROBERTSON et SCHWARTZ obtiennent chez le Cobaye la formation d'un tissu de granulation par injection de carragénine. Ils administrent sous la peau de l'abdomen une solution à 1 % de carragénine dans du sérum physiologique. Le 10ème jour, un granulome de 10 g environ est formé. De nombreuses études histologiques faites principalement par WILLIAM et ROBERTSON (cités par R. Marcy) montrent que la réaction inflammatoire commence par un oedème au point d'injection. Cet oedème diffuse au cours des 24 heures qui suivent. Apparaît ensuite une masse gélatineuse. Le troisième jour des éléments cellulaires (mononucléaires et polynucléaires envahissent cette masse). Le cinquième jour on y décerne des fibroblastes, des histiocytes et des capillaires. Au 10ème jour la masse est rétractée, des fibres de réticuline l'ont

envahie, elle est facilement clivable et on la sépare sans difficulté de la peau et des muscles. Si le granulome est laissé en place jusqu'au 14ème jour, on assiste à la substitution des fibres de réticuline par des fibres de collagène. Le tissu néoformé devient ensuite fibreux et le collagène périphérique disparaît. Après la troisième semaine, la résorption du granulome commence. A la sixième semaine il ne reste que quelques traces fibreuses.

2. Production d'une arthrite chronique localisée

- SELYE obtient une lésion inflammatoire à caractère chronique par injections répétées de formol sous l'aponévrose plantaire d'un Rat. Il administre 0,2 ml d'une solution de formol à 4 % une première fois. Cette injection est renouvelée 4 jours plus tard puis plusieurs fois encore à quelques jours d'intervalle. Une périarthrite chronique indurée apparaît et dure plusieurs semaines. Il n'existe aucune tendance spontanée à la régression. L'articulation est très douloureuse, augmente de volume et s'ankylose.

- WILHELMI fait six injections en 24 jours d'une solution de formol à 1 %. Il se développe une arthrite chronique. Les animaux sont sacrifiés 4 semaines après. On mesure la circonférence de l'articulation puis la patte est coupée et pesée.

- BROWNLEE obtient une inflammation chronique à la suite de deux injections à 2 jours d'intervalle de 0,1 ml d'une solution de formol à 2 %. Ensuite à l'aide d'un calibre d'ingénieur, il mesure la partie dorso-plantaire voisine de l'articulation.

- DUCOMMUN emploie une suspension à 10 % de kaolin dans l'eau ou l'huile. L'inflammation est maximum après six à huit jours. Une seule injection suffit pour obtenir une arthrite chronique. L'importance de la réponse inflammatoire est donnée grâce à un pied à coulisse qui permet de mesurer les deux diamètres antéro-postérieur et latéro-latéral de l'articulation. On prend comme témoin une patte normale.

3. Production d'une polyarthrite chronique

- SELYE provoque une polyarthrite chronique particulièrement sévère chez des rats surrénalectomisés. Il utilise la technique du granulome à poche d'air pour la croissance de tissu de lympho-sarcome chez des rats "Murphy". Il récolte le liquide exsudé et l'injecte par voie intra-péritonéale ou intra-veineuse à des rats.

- STOERK développe des lésions arthritiques chez des rats en leur injectant par voie sous-cutanée une suspension de cellules spléniques de Rat ou de boeuf dans l'adjuvant de Freund (Bacilles de Koch tués par la chaleur en suspension dans une huile minérale). Une polyarthrite chronique fait son apparition 3 à 4 semaines après les injections et dure pendant cinq mois environ.

b) par sensibilisation

A -"NATURELLE"

Une réaction inflammatoire généralisée peut être réalisée par exemple chez le Rat par injection intrapéritonéale de 1 ml à 1,5 ml de blanc d'oeuf frais. On observe alors l'apparition d'une vasodilatation importante au niveau des pattes 15 à 40 minutes après l'injection; puis très rapidement se développe un oedème des pattes et du museau. Cet oedème atteint son maximum 90 à 100 minutes après l'injection : les lèvres et la langue sont gonflées, souvent cyanosées, le nez est rouge, augmenté de volume, la tuméfaction des pattes et du scrotum est importante (HALPERN et BRIOT).

Des réactions similaires peuvent être obtenues avec le dextran également chez le Rat.

## B - PROVOQUEE

WILHELMI injecte quatre fois par 24 heures 2 ml de sérum de Cheval stérile à des lapins pour les sensibiliser. Un mois après, il administre 0,5 ml de sérum dans l'articulation du genou. On voit alors apparaître localement une réaction inflammatoire avec épaississement et rougeur de la capsule articulaire et même des petites hémorragies et des foyers nécrotiques au niveau du tissu articulaire, de la membrane synoviale et des muscles voisins.

HARRIS et HARRIS injectent une fois par semaine pendant 4 semaines 1 ml de sérum de Cheval par voie sous-cutanée à des lapins. Après la 5ème injection, chez la plupart des animaux, une lésion locale est observée au point d'injection. Si on injecte alors dans le derme 0,5 ml de sérum de Cheval, on obtient une réaction inflammatoire maxima après une journée.

Les mêmes auteurs administrent également par voie sous-cutanée 0,15 mg de bacilles de Calmette et Guerin à des lapins. Après trois semaines, ils injectent dans le derme 0,1 ml de tuberculine brute de Koch diluée au 1/10° ou des particules provenant de bacilles de Calmette et Guerin et obtiennent une réaction locale. Une étude similaire a été réalisée sur le Cobaye. L'intensité de la réaction inflammatoire a été notée grâce à la mesure de l'épaisseur de la peau au point d'injection, ceci en raison de la pigmentation des animaux.

GERMUTH et Collab. ont provoqué une réaction d'Arthus avec de l'ovalbumine. Oedème, hémorragie, infiltration leucocytaire du derme, signes évidents d'une réaction inflammatoire ont été décelés après examen histologique des lésions des animaux.

Il est également possible de provoquer un phénomène allergique de Shwartzman à l'endotoxine typhique.

UNGAR et Collab. sensibilisent des lapins à l'ovalbumine

en pratiquant 8 injections de 1 ml d'une solution d'ovalbumine à 1 % réparties sur 4 semaines. Pour sensibiliser ensuite passivement des cobayes à l'ovalbumine, ils leur administrent ce sérum de lapin par voie intra-cardiaque. Une heure après on leur injecte 0,1 ml d'une solution à 5 % de blanc d'oeuf dans l'articulation tibio-tarsienne droite, l'articulation gauche sert de témoin et reçoit 0,1 ml d'une solution de ClNa à 0,85 %. L'oedème péri-articulaire constaté une heure après puis toutes les 30 minutes pendant cinq heures, est plus ou moins important selon la quantité d'antigène injecté au Lapin lors de sa sensibilisation active.

FRENCH et Collab. préparent un sérum de Lapin anti-Cobaye. Pour cela ils injectent par voie veineuse du sérum de Cobaye à des lapins trois fois par semaine pendant trois semaines.
0,1 ml de ce sérum de Lapin anti-Cobaye dilué au 1/2 avec du soluté isotonique de ClNa est alors injecté dans l'articulation tibio-tarsienne d'un jeune Cobaye, ce qui entraîne la formation d'un oedème inflammatoire. Comme élément de comparaison on peut injecter dans l'articulation de l'autre patte la même quantité de sérum de Lapin normal dilué au 1/2.

# - IV -

# ETUDE DES SUBSTANCES

# ANTI-INFLAMMATOIRES

Les modèles bien standardisés d'inflammation expérimentale sont créés chez les animaux de laboratoire pour l'étude pharmacodynamique des médications anti-inflammatoires.

Les réactions inflammatoires ainsi provoquées sont soumises à l'action des médications considérées et on observe leur évolution. La mesure des résultats obtenus chez les animaux traités par comparaison avec des animaux témoins permet de juger de l'efficacité des substances utilisées.

Le problème est de déterminer jusqu'à quel point l'étude de l'action de certains médicaments anti-inflammatoires chez l'animal de laboratoire permet de mieux les classer dans un but de thérapeutique chez l'Homme.

Cette étude doit tenir compte à la fois du modèle d'inflammation choisi, de la mesure des phénomènes inflammatoires reproduits et enfin de la substance étudiée et de la façon dont elle est administrée.

## LE MODELE D'INFLAMMATION

Nous ne reviendrons pas sur les différents modèles exposés précédemment. Toutes ces méthodes portent sur les diverses phases de l'inflammation et essayent de reproduire les phénomènes qui en font partie. Elles sont plus ou moins faciles à reproduire et plus ou moins rapides. L'expérimentateur doit donc faire un choix qui réponde au but qu'il s'est fixé.

Ce but, c'est la possibilité d'étudier plus particulièrement une manifestation pathologique donnée.

Sous le vocable de "réaction inflammatoire" on englobe toute une série de phénomènes pathologiques depuis la simple réaction vasculaire jusqu'aux formes cicatricielles chéloïdes en passant par toutes les phases du phénomène inflammatoire que nous avons précédemment décrites.

Selon la pathologie expérimentale recherchée - la pathologie qu'il veut créer, l'expérimentateur va faire varier les différents facteurs susceptibles de modifier le modèle : l'animal réactif, le facteur inflammatoire, les conditions expérimentales.

a) l'animal réactif

En dehors des rongeurs de laboratoire utilisés de façon usuelle, certains animaux sont plus intéressants à employer dans quelques études plus particulières, c'est le cas du Hamster pour l'étude du Bacille de Calmette et Guerin par exemple ou du Furet dans l'étude de certains virus etc... Dans le domaine de l'inflammation il y aurait peut-être intérêt à faire des essais sur ces animaux. Ce qui n'a pu être réalisé pratiquement jusqu'à présent.

Si la sensibilité propre de l'animal peut varier selon la race, selon la substance inflammatoire choisie, il sera également plus ou moins sensible et la réaction finale obtenue sera plus ou moins importante.

Enfin il faut noter que l'action des drogues est parfois différente suivant l'animal. C'est une constatation d'expérience. Alors que dans la technique d'AMBROSE et EDS chez le Lapin, modifiée chez le Rat, la perméabilité capillaire est nettement inhibée par le phénergan et le salicylate, elle est au contraire augmentée chez le Rat par la cortisone et la corticostimuline. Ceci est mis en évidence par l'accélération de la coloration de

la peau; tandis que chez le Lapin, d'une part la cortisone n'a aucune action, d'autre part la corticostimuline provoque un retard de l'extravasation du colorant.

En cas d'irradiation ultra-violette de la peau, la cortisone ne retarde pas l'apparition de l'érythème chez les cobayes alors qu'à la même dose elle diminue le nombre des réactions de nécrose chez les rats.

Ajoutons que le métabolisme des substances varie lui aussi, en fonction de l'espèce animale considérée. Il est donc possible d'envisager un mode d'action différent des drogues étudiées suivant l'animal utilisé, ceci pour des raisons métaboliques. Citons à titre d'exemple l'excrétion par l'Homme sous forme de dérivés glycuro-conjugués du quart des corps salicylés ingérés alors que l'on ne retrouve normalement pas cette excrétion chez le Rat.

b) le facteur inflammatoire

Bien qu'ayant une même symptomatologie clinique, les oedèmes généralisés d'origine diverse, obéissent à des mécanismes différents. Ainsi, l'oedème du Rat à l'ovalbumine et l'oedème provoqué par l'injection intrapéritonéale de dextran chez le même animal; on observe dans le second, une élévation du taux des corticoïdes dans le sang qui n'existe pas dans le premier alors que celui-ci entraîne une baisse de l'acide ascorbique surrénal.

Enfin, la cortisone et l'hydrocortisone n'ont aucune action sur l'oedème au dextran tandis que l'oedème à l'ovalbumine est inhibé par la cortisone.

Un autre exemple peut être donné avec l'oedème au formol et l'oedème au dextran. STENGER étudiant les mécanismes de ces deux oedèmes a injecté simultanément de l'acide lysergique (à activité antisérotonine) et du formol ou de l'acide lysergique et du dextran. Le développement de l'oedème au dextran est entravé

alors qu'aucune action inhibitrice n'est relevée contre l'oedème au formol. Ceci est confirmé par une injection intrapéritonéale préventive de sérotonine qui inhibe, elle aussi, l'oedème au dextran. D'où l'on peut conclure que la sérotonine a une influence essentielle dans l'élaboration de l'oedème au dextran et un rôle quasi nul dans le développement de l'oedème au formol. Comme du reste dans l'oedème au kaolin qui semble se comporter de façon similaire.

c) les conditions expérimentales

Elles sont importantes. Ce sont des facteurs extrinsèques susceptibles de modifier le modèle expérimental. GARATTINI et JORI étudiant les variations des différents oedèmes localisés induits par diverses substances comme la carragénine, le kaolin, le dextran, la levure, la sérotonine, ont observé que des changements de température (de 14° à 28° C) et d'humidité relative (27 % - 92 %) du milieu ambiant n'ont pratiquement pas d'influence sur l'importance de l'oedème. Par contre, la réponse oedémateuse est modifiée par l'emploi de diurétiques, d'agents ganglioplégiques ou de substances vaso-pressives. Cependant toutes les formes d'oedème ne sont pas également sensibles, les oedèmes de formation rapide étant les plus susceptibles de modification. L'oedème à la carragénine paraît être le modèle inflammatoire le moins influencé par ces différents facteurs.

On a donc toujours intérêt à chercher un test aussi peu sensible que possible aux facteurs extrinsèques et suffisamment sensible aux substances bien connues.

## LA MESURE DE LA REACTION INFLAMMATOIRE

La mesure de l'intensité des réactions inflammatoires est souvent basée sur l'évaluation quantitative des quatre symptômes principaux : rougeur, chaleur, tumeur, douleur, lesquels

résultent eux-mêmes en partie des phénomènes vasculaires de l'inflammation.

On appréciera donc la température de la région atteinte, la diffusion à son niveau d'un colorant préalablement injecté dans le courant circulatoire, l'importance d'oedème local ou le poids d'un granulome.

Cette mesure va donc différer selon le modèle inflammatoire choisi.

a) l'intensité d'un érythème

Il peut être évalué à l'aide d'un photomètre à réflexion. On mesure la diminution de la réflexion de le peau. Le résultat est exprimé par rapport à un standard d'absorption (sulfate de baryum).

b) l'exsudat plasmatique

Comme nous l'avons vu l'importance d'un exsudat peut être appréciée quantitativement par la diffusion d'un colorant. On mesure alors le temps d'apparition et l'intensité de la coloration. Cette mesure est utilisée dans les modèles où l'inflammation est obtenue par application locale de substances irritantes sur la peau et les muqueuses.

HARRIS et HARRIS, au cours d'une étude sur le Cobaye, ont mesuré l'épaisseur de la peau au point d'injection par rapport à un groupe témoin. Ceci en raison de la coloration de la peau des animaux utilisés.

Au cours d'un travail analogue sur la réaction à la tuberculine chez le Cobaye vacciné au Bacille de Calmette et Guerin, OSGOOD et FAVOUR ont apprécié l'intensité de la réaction en mesurant le diamètre moyen de la zone érythémateuse 24 heures après l'injection.

Dans le cas de la pleurésie expérimentale à la térébenthine chez le Rat, le volume du liquide exsudé au bout de temps

variables est comparé avec le volume obtenu chez des animaux témoins non traités.

GERMUTH et Coll. procèdent à l'examen histologique des lésions apparues à la suite d'une réaction d'Arthus à l'ovalbumine. Cet examen qui permet de déceler un oedème marqué, une infiltration leucocytaire du derme, des phénomènes de nécrose locale avec thrombose des petites artères chez les animaux témoins, montre seulement l'existence d'un léger oedème et une petite infiltration leucocytaire chez les animaux traités.

Une critique mérite néanmoins d'être faite. Dans les modèles inflammatoires étudiant plus particulièrement la perméabilité capillaire, si la formation de l'oedème est bien le signe de l'augmentation de cette perméabilité, GOZSY et KATO pensent que l'accumulation de colorant n'en est pas la traduction exacte et relève d'un mécanisme différent. D'après eux, si le colorant fixé aux protéines plasmatiques traverse avec celles-ci les parois des capillaires dilatés de la zone enflammée, ceci est dû à l'activité phagocytaire des cellules endothéliales, des histiocytes et des fibrocytes. Son extravasation et son accumulation serait donc en rapport avec une augmentation de l'activité phagocytaire des cellules.

c) la réaction cellulaire précoce

On peut utiliser :

- soit les "pièges à cellules".

COSTE, DELBARRE et BASSET-LACRONIQUE évaluent 24 heures après l'implantation d'une rondelle d'éponge de polyvidone, le pourcentage des différents éléments cellulaires. Pour cela, ils coupent l'implant en deux, prennent l'empreinte de la section d'une des parties et la colorent. L'autre partie est arrosée de sérum physiologique, centrifugée dans un tube à hémolyse. Ils procèdent alors à la numération sur cellule de Nageotte des éléments cellulaires chassés de l'éponge avec le liquide qu'elle contient. Lorsque les implants sont imprégnés d'acétate d'hydro-

cortisone, on trouve environ 63 éléments par mm3 tandis que pour les implants témoins, on en compte plus de 500.

THIEBLOT et Coll. au cours d'une autre expérience pèsent l'implant. L'administration de cortisone par voie général diminue le volume du liquide exsudé et l'afflux leucocytaire. Le poids moyen de l'implant est inférieur par rapport au témoin chez l'animal traité.

- soit directement la numération des cellules sur coupe mince de tissu conjonctif.

DOUGHERTY et SCHNEEBELI dissèquent la partie atteinte par le processus inflammatoire et après coloration procèdent par mm2 à la numération des polynucléaires, des lymphocytes, des histiocytes, des fibroblastes et des mastocytes. Ils ont ainsi démontré qu'il existe 6 heures après l'injection du produit inflammatoire "dans certaines limites, une relation linéaire entre le logarithme de la dose d'hydrocortisone administrée et le pourcentage de polynucléaires" (cité par R. MARCY).

d) l'oedème. L'importance d'une réaction oedémateuse généralisée peut être évaluée d'une façon approximative en exprimant à l'aide d'une croix comme le fait VAN CAUWENBERGE, l'intensité des différents symptômes observés.

Cette notation (citée par R. MARCY) :

| | |
|---|---|
| 0 ..... | ni oedème, ni coloration bleue visibles au niveau des téguments et des muqueuses. |
| + ..... | scrotum coloré en bleu. |
| ++ ..... | oedème des pattes, surtout au niveau du tarse. |
| +++ ..... | oedème du museau, de la langue, des pattes avec bourrelet oedémateux peu coloré |
| ++++ ..... | oedème et coloration bleue très apparents et généralisés. |

a été mise au point lors de l'appréciation d'une réaction inflammatoire 4 heures après l'injection intrapéritonéale d'ovalbumine. C'est ainsi qu'il a pu constater que la cortisone à la dose de 10 mg/kg provoque une diminution de l'oedème 4 heures après son administration.

Par contre pour HALPERN et BRIOT la cortisone et la désoxycorticostérone sont sans effet.

On voit que suivant les auteurs, les résultats peuvent être très différents.

L'intensité d'un oedème localisé (le plus souvent à la patte) est relativement plus facile à apprécier, et les méthodes de mesure sont nombreuses. On peut l'évaluer d'une façon quantitative en enregistrant la variation de volume du membre grâce à un pléthysmomètre relié à un manomètre.

Ce procédé a été employé par DOMENJOZ et les résultats sont exprimés en mm3, mais cette méthode ne peut être appliquée que sur un animal anesthésié pendant toute la durée de l'expérience, ce qui est un inconvénient.

On peut aussi objecter que l'étanchéité de la cuve dans laquelle est plongée la patte n'est pas parfaite; dans l'appareil de DOMENJOZ, elle est assurée par de la graisse.

De nombreux auteurs ont cherché à pallier ces inconvénients en imaginant d'autres procédés. D'autres appareillages ont été construits qui permettent une mesure du volume par déplacement d'eau. Certains sectionnent et pèsent les pattes, projettent leur silhouette etc... Plusieurs de ces méthodes obligent à procéder au sacrifice de l'animal ou à l'amputation des membres. Si l'on veut pouvoir suivre l'évolution de l'oedème inflammatoire, il est nécessaire d'avoir recours aux seules méthodes qui permettent de mesurer l'oedème sur un animal vivant.

Quand on a recours aux modèles qui provoquent une arthrite tibio-tarsienne, on mesure le plus souvent le diamètre ou la circonférence de l'articulation.

FRENCH et Coll. se servent d'un calibreur micrométrique pour mesurer l'articulation tibio-tarsienne d'un jeune Cobaye, articulation dans laquelle a été injectée préalablement du sérum de Lapin anti-Cobaye. Ils injectent comme élément de comparaison la même quantité de sérum de Lapin normal dilué au 1/2 dans l'articulation hétéro-latérale. On mesure l'épaisseur des deux articulations une heure après l'injection puis toutes les 1/2 heures pendant 5 heures. Les différences de mesure entre les deux articulations permettent d'obtenir un index (Swelling index si).

UNGAR qui obtient une arthrite expérimentale par phénomène d'Arthus emploie un procédé presque similaire; il mesure le diamètre transversal de l'articulation avant l'injection de l'antigène, puis comme FRENCH une heure après et chaque 1/2 heures pendant 5 heures. Si dA et ds représentent respectivement les diamètres de l'articulation ayant reçu l'antigène et de l'articulation ayant reçu le sérum salé, on peut écrire : $\Delta d = dA - ds$, les résultats étant exprimés par les différences de diamètres : $\Delta d$.

e) la réaction cellulaire tardive et la prolifération conjonctive. Dans le cas du granulome à poche d'air de SELYE, on peut évaluer l'importance de la réaction en pesant le granulome. Sa dissection est facile puisqu'il est bien individualisé. On mesure également le volume du liquide exsudé.

Outre l'examen histologique, on peut procéder comme ROMANI à des mensurations au microscope des abcès à la térébenthine chez des animaux témoins et chez des animaux traités d'une façon locale ou générale par la cortisone et l'hydrocortisone.

BROWNLEE mesure à l'aide d'un calibreur d'ingénieur la dimension dorso-plantaire voisine d'une articulation atteinte d'arthrite chronique à la suite d'injections d'une solution de formaldéhyde. DUCOMMUN se sert d'un pied à coulisse et mesure les

deux diamètres antéro-postérieur et latéro-latéral de l'articulation. Le degré de l'inflammation est exprimé en faisant la moyenne des diamètres de la patte normale et de la patte malade.

Ces différents procédés permettent l'étude dans le temps de l'action du médicament anti-inflammatoire expérimenté.

D'une façon plus générale, au cours d'une inflammation expérimentale et de son traitement, il peut être intéressant d'étudier le "comportement" du système réticulo-endothélial.

Deux autres techniques méritent d'être citées. THIEBLOT et Coll. injectent par voie intra-articulaire à des lapins mâles une solution de phénol-sulfone-phtaléine et notent le temps d'apparition d'une coloration urinaire (une sonde en gomme ayant été préalablement introduite dans l'urètre jusqu'à la vessie). Ce test étudie les modifications de perméabilité de la membrane synoviale enflammée, cette perméabilité dépendant de la production locale d'hyaluronidase, le test donne surtout une mesure de l'activité antihyaluronidase des médicaments. Chaque animal sert de témoin à lui-même, il subit l'épreuve avant et après traitement par la substance étudiée (test de SEIFTER modifié).

HUGUES et LECOMTE réalisent une microcinématographie des vaisseaux mésentériques du Lapin sensibilisé et saisissent ainsi leur modification lors de l'injection de l'antigène correspondant.

LA SUBSTANCE ETUDIEE

a) son mode d'administration. Il est certain qu'il a son importance. Ainsi dans le test d'AMBROSE et EDS qui étudie les variations de la perméabilité des parois vasculaires, le salicylate de sodium injecté par voie intra-veineuse immédiatement avant l'irritation du tégument cutané, aplatit et élargit la courbe de fréquence du temps d'apparition du colorant dans la peau irritée. S'il est injecté par voie intra-péritonéale trois heures avant le test, il provoque l'apparition de deux sommets sur la

même courbe.

b) la dose et son temps d'administration. Le rôle de ces deux facteurs a pu maintes fois être mis en évidence. Ainsi SAXENA et THIEBLOT utilisant le test de COSTE légèrement modifié (inclusion d'un implant d'éponge de polyvidone) obtiennent des résultats différents à la suite d'un traitement par un corticostéroïde. Si les résultats de SAXENA confirment la baisse du nombre des leucocytes, par contre, pour lui le poids de l'exsudat n'est pas modifié par comparaison avec les animaux témoins, contrairement à ce que trouve THIEBLOT. Pour R. MARCY, il semble que ce soient les faibles doses administrées par SAXENA ainsi que le peu de temps qui sépare le prélèvement de l'implant de l'administration du médicament anti-phlogistique, qui soient à l'origine de ces divergences.

De même à doses faibles et moyennes (2 à 5 injections répétées de 6 h en 6 h) les salicylates restent inactifs sur un purpura provoqué par injection sous-cutanée d'huile de croton. La mesure est réalisée en comptant le nombre de pétéchies (technique de BONNAMEAUX et LECOMTE), par contre à doses fortes, ils inhibent la formation du purpura. La corticostimuline à doses faibles et moyennes (2 à 5 injections de 12 h en 12 h) reste sans action tandis que les lésions sont aggravées par une dose forte.

Enfin, les substances à étudier sont administrées avant l'agression par la substance inflammatoire sinon le médicament anti-phlogistique n'a aucun effet; ainsi un traitement par la cortisone entrepris plusieurs jours avant une injection de carragénine et poursuivi jusqu'à ce que les animaux soient sacrifiés, inhibe nettement la formation du tissu de granulation, par contre le même traitement entrepris après l'injection de carragénine n'a pas cet effet inhibiteur.

c) l'interprétation des résultats

COSTE et Coll. (cîté par R. MARCY) interprétant les ré-

sultats obtenus à la suite de l'implantation de rondelles de polyvidone imprégnées d'acétate d'hydrocortisone chez le Rat, précisent que la diminution d'éléments cellulaires par rapport à des implants témoins ne saurait être interprétée strictement comme une action anti-inflammatoire, mais uniquement comme une action "leucotropique négative". D'autres facteurs comme le pH et la solubilité dans l'eau de la substance imprégnant l'éponge par exemple, étant susceptibles d'intervenir dans le phénomène.

Etudiant la réaction cellulaire précoce, SAXENA a cherché les divers mécanismes susceptibles d'entrer en jeu lors de sa modification sous l'action d'une drogue donnée. Il en distingue quatre :

- action directe sur les leucocytes
- action sur la perméabilité des vaisseaux et leur tonus
- action sur le taux de certaines substances physiologiques
- action plus générale sur le système nerveux central.

*
*  *

Au terme de cette étude critique, nous constatons que de nombreux modèles d'inflammation locale ou générale ont été imaginés dans le but d'étudier les substances anti-inflammatoires. Bien que ces modèles aient été bien standardisés, on a pu observer que la réponse même locale de l'organisme à une agression varie sous l'influence de ces substances, avec la nature de l'agent agresseur, les espèces animales, les individus, le mode d'administration des médications.

D'autre part, ces modèles sont assez éloignés des conditions pathologiques réelles. Le plus souvent, seul le traitement préventif par la substance à étudier permet de faire apparaître son action anti-inflammatoire, le traitement curatif tel qu'il est prescrit en thérapeutique paraissant sans effet. Rappelons

enfin la fréquence de l'insensibilité de certains tests aux anti-inflammatoires réellement très actifs en clinique, et inversement l'efficacité de certains anti-histaminiques au cours des études pharmacologiques alors qu'ils se montrent inactifs cliniquement comme anti-inflammatoires.

Le problème est donc de savoir si l'expérimentation animale est véritablement capable de déceler l'action anti-inflammatoire d'une substance. Quoiqu'il en soit, il apparait que toutes les possibilités thérapeutiques d'une substance anti-inflammatoire ne puissent être mises en évidence sur un seul modèle expérimental; cette substance étant susceptible d'agir diversement sur les différentes phases du processus inflammatoire.

# - V -

# L E  M O D E L E  P R O P O S E

Le modèle expérimental proposé permet de réaliser un véritable "modèle thérapeutique" de l'inflammation. Le problème posé était de reproduire un phénomène inflammatoire selon un processus se rapprochant le plus possible des conditions observées en pathologie.

P. LALLOUETTE et R. RICHOU eurent l'idée d'utiliser la toxine staphylococcique dans des essais d'inflammation expérimentale, compte tenu du rôle joué par cette toxine microbienne dans de nombreuses manifestations pathologiques. C'est la technique qu'ils ont proposé qui a été utilisée dans ce travail.

## LA SUBSTANCE INFLAMMATOIRE

### a) La toxine staphylococcique. Ses propriétés

Les staphylocoques pathogènes élaborent une toxine qui diffuse dans le milieu de culture. Cette toxine est douée de multiples propriétés qui disparaissent par chauffage à 60°; elle est détruite par les acides forts dilués, s'altère à l'air et perd la moitié de son activité à la glacière sous huile de vaseline après six mois. Elle représente un antigène différent de celui contenu dans les corps microbiens. Ces deux antigènes n'ont en effet ni les mêmes propriétés toxiques ni le même pouvoir antigène.

G. RAMON et R. RICHOU ont tout particulièrement étudié les particularités de cette toxinogénèse. Le titrage de la toxine est

effectué en recherchant son pouvoir nécrosant et léthal, son action hémolytique, ses propriétés entérotoxiques et enzymatiques.

1. pouvoir nécrosant : il est mis en évidence par inoculation intradermique chez le Lapin. La largeur de la nécrose est proportionnelle à l'activité de la toxine. Pour établir la dose minimale nécrosante, il suffit d'injecter dans le derme de l'animal préalablement épilé (au sulfure de baryum par exemple) 1/10 de ml de dilutions variables de cette toxine. La lecture des réactions est faite 24 à 48 heures après l'injection. La dose minimale nécrosante est la plus petite quantité de toxine qui est encore capable de faire apparaître une escarre. La dose test cutanée ou dose combinée escharrifiante est la plus petite quantité de toxine qui ajoutée à 1/10 d'unité antitoxique de sérum standard (1) et injectée dans le derme du Lapin détermine encore une nécrose cutanée légère mais caractéristique.

2. action léthale : l'injection intra-veineuse de toxine à un Lapin provoque très rapidement des symptômes cérébraux graves suivis d'agitation, l'évolution se fait vers la mort. La dose léthale minima est la plus petite dose de toxine qui entraîne la mort de l'animal après injection par voie veineuse à des lapins ne possédant pas d'immunité naturelle antistaphylococcique des quantités variables de cette toxine.

3. pouvoir entérotoxique. Certaines souches de staphylocoques sont responsables d'intoxication. L'injection intrapéritonéale d'entérotoxine provoque des accidents caractéristiques : injectée à de jeunes chats de 6 à 8 semaines à la dose de 0,50 ml elle entraîne après 15 à 30 minutes d'importants troubles digestifs avec lipothymie et sommeil (kitten-test ou test du jeune Chat). Des grenouilles recevant par voie parentérale ou buccale des filtrats contenant de l'entérotoxine et placées dans un aquarium, présentent un spasme précédé par une série d'ingurgitations, de

(1) Unité établie d'après les conventions du Comité d'étalonnage de la Société des Nations.

baillements, un changement progressif de la coloration de la peau, une modification de l'attitude, la réaction serait spécifique (frog-test ou test de la Grenouille).

Ces divers tests discutés semblent n'avoir pour certains auteurs qu'une valeur toute relative.

4. propriétés enzymatiques

. gélatinolytiques : certains staphylocoques secrètent une protéinase qui liquéfie la gélatine. Il est possible d'évaluer en unités le titre gélatinolytique de cette diastase.

. fibrinolytiques : la coagulation du plasma oxalaté par le staphylocoque peut être suivie après un temps variable de la dissolution plus ou moins complète du caillot. C'est ainsi qu'on a pu mettre en évidence le pouvoir fibrinolytique de la toxine staphylococcique.

D'autres propriétés enzymatiques : lipasiques, lécithinasiques etc... ont pu être également déterminées.

5. pouvoir hémolytique. Le staphylocoque élabore dans les cultures deux hémolysines : l'hémolysine $\alpha$ et l'hémolysine $\beta$ que l'on distingue par leur action différente sur les globules de mammifères. L'hémolysine $\alpha$ surtout élaborée par les staphylocoques humains possède la propriété de lyser les globules de Lapin après un séjour d'une heure à l'étuve à 37°, elle est inactive sur les globules rouges humains. L'hémolysine $\beta$ lyse les globules rouges de Mouton, les globules rouges humains, les globules rouges de boeuf mais est inactive sur les globules de Lapin. La dose minimale hémolytique est la plus petite quantité de toxine $\alpha$ capable d'hémolyser en totalité une goutte de globules rouges de Lapin lavés trois fois et dilués au 1/3. La dose test hémolytique est la plus faible dose de toxine qui provoque encore l'hémolyse d'une goutte de suspension de globules rouges de Lapin lavés trois fois et dilués au 1/3 en présence d'une unité

antitoxique de sérum standard. (1)

La toxine hémolytique ∝ se fixe sur le stroma globulaire qu'elle lyse et plus particulièrement sur les lipoïdes du stroma extractibles par l'alcool-éther ou le chloroforme. Elle est inactive à basse température et détruite par chauffage une demi-heure à 56°.

b) préparation

Les auteurs ont utilisé une toxine à pouvoir hémolytique ∝ ou ∝ staphylotoxine (2) obtenue à partir de la souche WOOD cultivée pendant sept jours à 37° en atmosphère contenant 20 % de CO2 et 80 % d'air sur milieu à base de digestion papaïnique de viande de Cheval. Les propriétés hémolytiques, dermonécrotiques, léthales, entérotoxiques et enzymatiques des filtrats obtenus ont été évaluées par les méthodes que nous venons de décrire.

## LE MODELE EXPERIMENTAL

a) l'animal réactif

En référence aux travaux de FIDA et BIAGGINI, c'est le Rat qui a été choisi comme animal réactif. Ces auteurs ont en effet obtenu constamment chez cet animal un oedème important par injection sous-cutanée d'∝ staphylotoxine.

Les essais rapportés en 1964 par P. LALLOUETTE, R. RICHOU et Coll. concernent 2.300 animaux de race Wistar. Les résultats les plus constants sont obtenus sur des animaux de 140 ± 10 grammes en bon état sanitaire. Tout animal atteint de diarrhée ou d'anorexie est éliminé. On utilise ces animaux par lots de 5 à 10 afin de tenir compte des variations individuelles. Il semble que la réponse inflammatoire ne soit pas influencée par le sexe.

---

(1) Unité établie d'après les Conventions du Comité d'étalonnage de la Société des Nations.

(2) Cette toxine a été très aimablement donnée par le Docteur R. RICHOU Directeur de recherches à l'I N S E R M.

b) technique

Dans le but de mesurer avec le plus d'exactitude possible l'intensité de la réponse inflammatoire afin de pouvoir titrer l'activité inflammatoire de la toxine, c'est une inflammation locale qui a été réalisée. La technique est voisine de celle qui a été précédemment décrite pour les études utilisant des substances telles que kaolin, formol.

On injecte 0,15 ml de toxine diluée selon un titrage préalable dans le coussinet plantaire de l'un des membres postérieurs du Rat. Une à deux heures après l'injection, apparaît localement un oedème important qui passe par un maximum aux environs de la 24ème heure. Il décroit ensuite progressivement et disparaît vers la 72ème heure.

Cette réaction inflammatoire est bien due à la toxine : en effet, injectés dans les mêmes conditions, ni le bouillon nutritif servant à la préparation de la toxine, ni l'anatoxine ne provoquent d'oedème.

c) mesure de la réaction inflammatoire

Vingt-quatre heures après l'injection de l'$\alpha$ -staphylotoxine, les animaux sont sacrifiés; on coupe les deux pattes arrière au niveau de l'articulation tibio-tarsienne, elles sont ensuite pesées séparément. La différence de poids constatée permet de déterminer le poids de l'oedème. On note l'importance de la réaction pour chaque animal. L'addition des nombres obtenus donne la réaction totale pour chaque lot. Le volume total de l'oedème induit sur le groupe d'animaux est mesuré par différence entre le volume des pattes ayant reçu la toxine et le volume des pattes témoins. La mesure de ce volume est obtenue par immersion des pattes sectionnées dans un volume d'eau contenu dans une éprouvette graduée.

d) titrage de la toxine

Dans le cours de l'expérimentation, la toxine a été

utilisée à volume et concentration variables.

a) injection de toxine pure sous un volume de 0,05 en 0,05 ml jusqu'à 0,2 ml.

b) injection de toxine pure ou diluée dans de l'eau physiologique (1/2, 1/4, 1/8 etc...) sous un volume fixe de 0,15 ml.

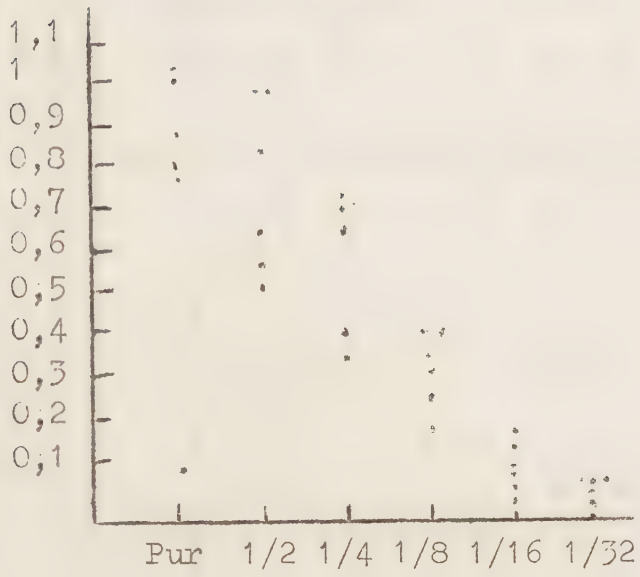
Les auteurs ont préféré pour leur titrage, inoculer la toxine sous un volume fixe mais à concentration variable (tableaux 1 et 2).

Les résultats rapportés dans ces tableaux permettent de montrer que la réaction mesurée est proportionnelle à la qualité et à la quantité de la toxine injectée; compte tenu de la réactivité différente que peuvent présenter certains animaux et qui modifie l'intensité de la réponse inflammatoire.

Il semble que dans le cas présent, l'observation dans de rares cas de certaines réactions de très faible intensité puisse être expliquée par des phénomènes d'immunités antitoxiques naturelles.

A la suite de l'ensemble de leurs essais LALLOUETTE et Coll. ont défini une "Unité inflammatoire" comme la "quantité de toxine qui, dans les conditions expérimentales décrites, provoque un oedème de 0,5 $\pm$ 0,1 g mesuré à la 24ème heure et qui correspond à environ 50 % de la réaction inflammatoire maximale observée.

Les propriétés hémolytiques et enzymatiques ayant été comme nous l'avons vu, préalablement évaluées, la toxine la plus active du point de vue inflammatoire a pu être déterminée. L'examen du tableau 3 permet de constater qu'il n'y a pas de parallélisme entre les propriétés hémolytiques, enzymatiques et inflammatoires des toxines staphylococciques utilisées. La toxine N° 4 303 provoque la plus forte réaction inflammatoire. Elle est deux fois plus active que les toxines N° 4 294 - 4 308 - 4 322. Les toxines N° 4 296 - 4 318 et 4 321 se répartissent du point de vue activité inflammatoire entre ces deux extrêmes.




Lot N° 4 298

TABLEAU I

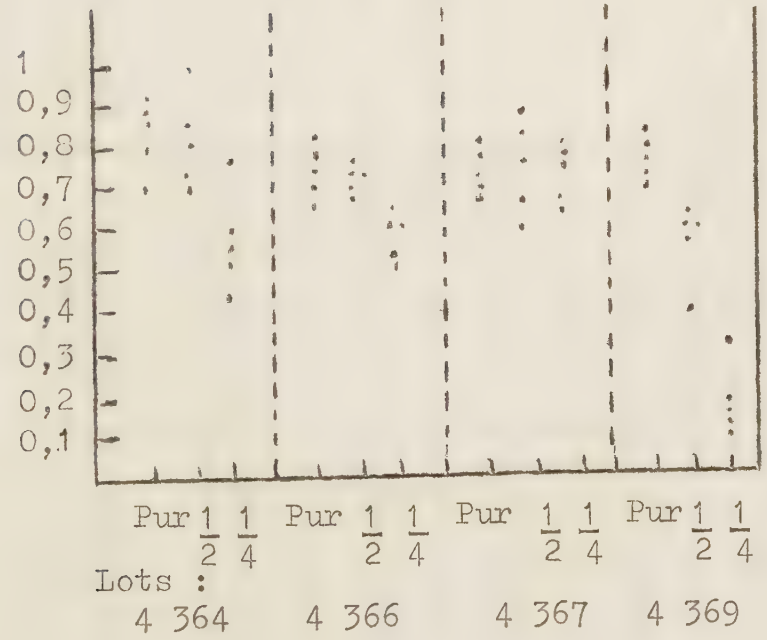


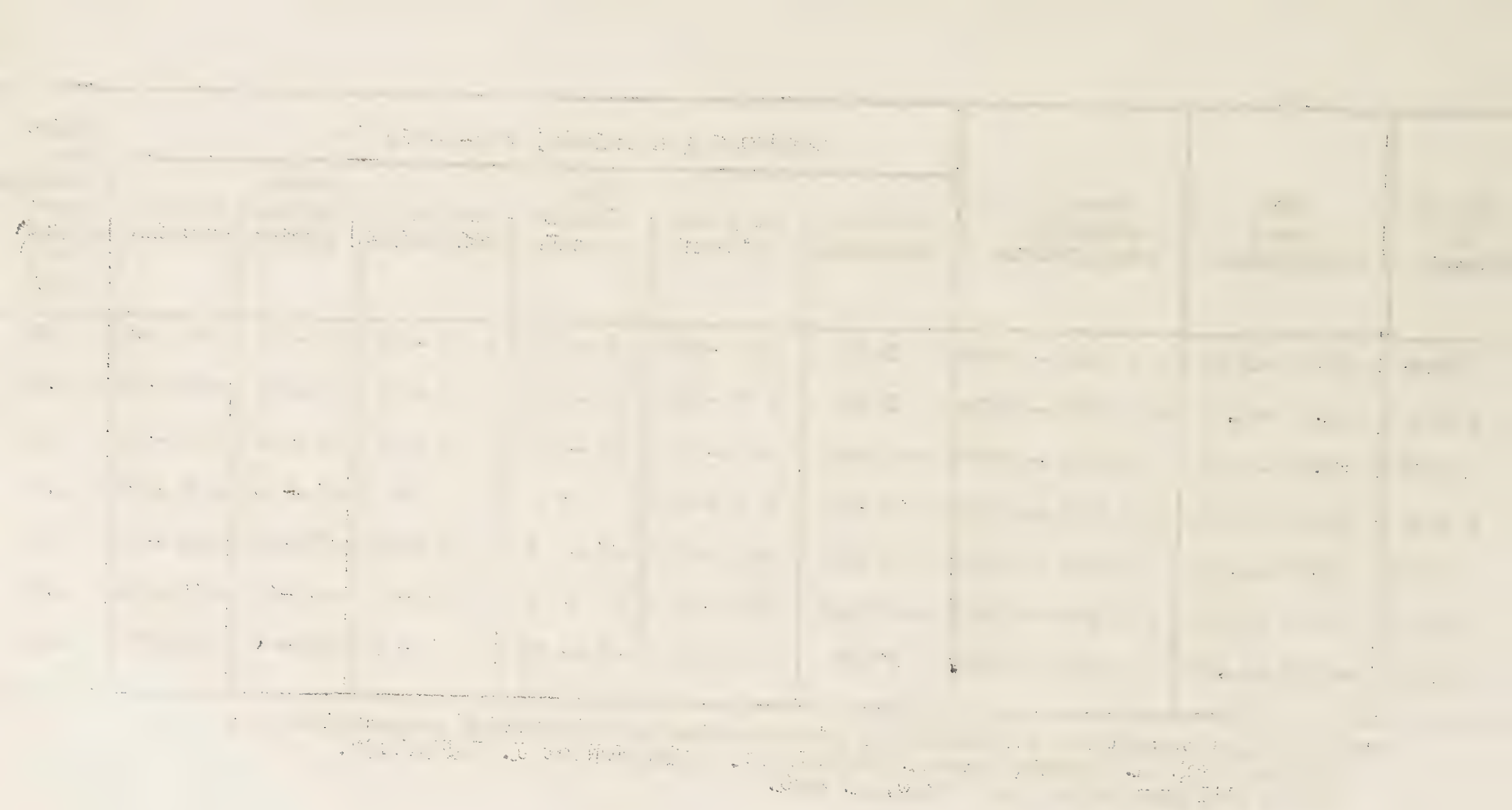

TABLEAU 2

| N° de la toxine | Dose test hémolytique | Dose minimale hémolytique | Activité (en unités) vis-à-vis (*) | | | | | | Poids de l'oedème par animal (**) (g) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | de la gélatine | du jaune d'oeuf | de l'huile de maïs | de la trioléine | de la tributyrine | de la caséine | |
| 4 294 | +0,10 -0,12 | +1/ 800 -1/500 | > 20 | +10 -30 | +3 - 10 | + 3 -10 | +3 -10 | +10 -30 | 0,5 |
| 4 296 | +0,10 -0,12 | +1/ 800 -1/500 | > 20 | + 3 -10 | +3 - 10 | + 3 -10 | +3 -10 | +10 -30 | 0,81 |
| 4 303 | +0,07 -0,10 | +1/1000 -1/800 | +10 -20 | +10 -30 | +3 - 10 | + 3 -10 | +3 -10 | +10 -30 | 1,07 |
| 4 308 | +0,20 -0,25 | +1/ 500 -1/300 | +10 -20 | + 3 -10 | -1 | -1 | +1 -3 | + 3 -10 | 0,5 |
| 4 318 | +0,07 -0,10 | +1/1000 -1/500 | +10 -30 | +10 -30 | +1 - 3 | + 3 -10 | +3 -10 | +10 -30 | 0,71 |
| 4 321 | +0,10 -0,12 | +1/ 500 -1/300 | +10 -20 | +10 -30 | +1 - 3 | + 10 -30 | +3 -10 | +10 -30 | 0,73 |
| 4 322 | +0,07 -0,10 | +1/ 500 -1/300 | > 20 | +10 -30 | +3 - 10 | + 1 - 3 | +3 -10 | +10 -30 | 0,53 |

(*) Pour les techniques utilisées et l'évaluation de l'activité enzymatique, en unités, cf. R. RICHOU, Mme R. RICHOU, Cl. QUINCHON et J. PANTALEON, Revue d'Immunologie, 24, 1960, p. 496.

(**) Pour la toxine diluée au 1/4

T A B L E A U 3



## LA REACTION INFLAMMATOIRE ET SON EVOLUTION

a) dans le temps

Certaines toxines provoquent dès les premières heures suivant l'injection, des oedèmes très importants. On pouvait penser que ces toxines donnaient les réactions les plus longues dans le temps.

En fait la poursuite de l'expérimentation n'a pas confirmé totalement cette hypothèse, en effet, on a pu constater qu'en fonction du temps :

1) les toxines sont plus ou moins nécrosantes. Ce fait est indépendant de la réaction oedémateuse des premières heures.

2) la propriété nécrotique et la réaction inflammatoire prolongée (existant après le 3ème jour) paraissent présenter un parallélisme constant.

3) le phénomène semble se dérouler comme s'il existait deux facteurs : l'un responsable d'un oedème précoce durant 48 heures environ, l'autre provoquant une réaction retardée évoluant vers la nécrose et commençant dès la 24ème heure. BONTA avait déjà signalé ce phénomène au sujet du venin de Cobra.

Il est donc normal de conclure que dans les filtrats de culture de souches toxigènes de staphylocoques, il existe un facteur qui provoque la réaction oedémateuse, différent du facteur responsable de la réaction lente, facteur nécrosant classique.

Il est alors possible d'étudier les deux temps essentiels de la réaction inflammatoire. LALLOUETTE et Coll. en se servant de toxines de titrages connus ont trouvé des échantillons qui provoquent uniquement une réaction oedémateuse sans nécrose secondaire et des échantillons qui donnent les deux réactions. Dans ce cas, on constate que la réaction maximale se place entre la 48ème et la 72ème heure et peut persister jusqu'à la 144ème heure. Si dans des conditions expérimentales similaires, on réinjecte la

même toxine dans la même patte de l'animal utilisé et n'ayant pas présenté de phénomènes de nécrose, cette nouvelle injection entraîne un nouvel oedème d'intensité et de durée comparables à la réaction primitive. Mais lors de réinoculations successives, on constate souvent 24 h. après la nouvelle injection, l'apparition d'un eczéma suintant qui envahit toute la patte, persiste plusieurs jours et se lichenifie. Ce fait met en évidence l'incidence de la toxine staphylococcique dans certaines lésions eczémateuses.

b) en fonction du lieu d'inoculation

Certains lots d'animaux ont reçu la toxine dans la patte droite, d'autres dans la patte gauche. On a pu ainsi vérifier que le lieu d'injection n'intervenait pas dans l'intensité de la réponse oedémateuse mesurée à la 24ème heure.

c) en fonction du nombre d'injections

L'injection d'une même quantité de toxine dans les deux pattes arrière d'un lot d'animaux provoque des réponses identiques de chaque côté et par rapport à leurs témoins respectifs.

## ETUDE IMMUNOLOGIQUE

a) immunité "naturelle"

A plusieurs reprises, il a été noté des réactions inflammatoires locales anormalement faibles sur certains animaux, et ce malgré l'utilisation d'une toxine préalablement titrée.

Il a pu être démontré que ce fait était en liaison avec une immunité antistaphylococcique particulièrement élevée chez ces animaux; en effet on rencontre habituellement de 0,1 à 0,3 unités staphylococciques par ml de sérum chez le Rat, tandis que chez les animaux qui ont présenté une faible réaction inflammatoire sous l'influence de la toxine staphylococcique on notait un titre de 3 à 7 unités.

b) immunité spécifique antistaphylococcique

1. immunisation passive. Elle est obtenue par injection sous-cutanée dans le dos de 3 ml de sérum antistaphylococcique (200 unités au ml). L'expérience porte sur un lot de 5 animaux. On injecte également 3 ml d'eau physiologique dans les mêmes conditions à 5 animaux témoins.

Les animaux sont éprouvés à la 24ème heure dans les conditions décrites ci-dessus, et on a pu constater une réduction de 75 % de la réaction inflammatoire chez les animaux immunisés.

2. immunisation active. On a essayé d'obtenir une immunisation active avec l'anatoxine staphylococcique. Des essais ont été effectués sur plusieurs lots de rats qui ont reçu des doses croissantes d'anatoxine à trois jours d'intervalle. Aucune protection n'a pu être mise en évidence jusqu'ici.

Par contre, il semble que chez des cobayes vaccinés et possédant un taux relativement élevé d'antitoxine staphylococcique, la réaction inflammatoire obtenue dans les mêmes conditions soit réduite de 50 % par rapport à celle mesurée chez des animaux témoins non vaccinés.

c) immunité croisée

Dans une série de travaux récents effectués avec la collaboration de Mademoiselle GUILLAUMIE, RICHOU, LALLOUETTE ont montré la spécificité de l'immunisation envers la réaction inflammatoire provoquée par des toxines microbiennes. En effet dans un premier stade, on a pu comparer les propriétés inflammatoires de la toxine staphylococcique et de la toxine du perfringens. Dans un second stade, les animaux ont été immunisés par groupes séparés au moyen, les uns de l'anatoxine staphylococcique, et les autres de l'anatoxine perfringens. Les animaux immunisés spécifiquement deviennent spécifiquement réfractaires à l'inflammation provoquée par la toxine homologue, et manifestent une réaction inflammatoire identique au témoin avec la toxine hétérologue.

## AUTRES MODELES POSSIBLES

Un modèle inflammatoire étant défini par la substance inflammatoire, l'animal utilisé, la voie d'administration et les conditions expérimentales, il est possible de faire varier l'un de ces facteurs.

a) autres animaux

1. essais sur la Souris. Des souris SWISS ♂ ou ♀ pesant 18 à 20 g réparties en lots de 10 animaux ont été utilisées. La réaction inflammatoire obtenue est intense et l'évolution est semblable à l'évolution observée chez le Rat. On injecte avec une aiguille à intradermo-réaction 0,05 ml de toxine de concentration variable. Les animaux sont sacrifiés 24 h. après l'injection et les deux pattes arrière sont sectionnées au niveau de l'articulation tibio-tarsienne. Comme pour le Rat, les pattes sont pesées séparément. Poids et volume de l'oedème sont déterminés de la même façon.

L'unité inflammatoire Souris peut être définie comme suit : "c'est la quantité de toxine qui provoque en 24 heures un oedème de 0,1 $\pm$ 0,01 g par patte injectée".

2. essais sur le Cobaye. Des cobayes tricolores à poils ras de poids moyen 300 g ont reçu la toxine staphylococcique dans une des pattes arrière. La réaction oedémateuse observée suit dans son intensité et sa forme la même évolution que celle décrite chez le Rat.

b) autres voies d'administration chez le Rat

Voie intra-péritonéale. Des lots de 5 à 20 animaux de 130 $\pm$ 10 grammes ont été utilisés. On injecte par voie intra-péritonéale à l'aide d'une aiguille de 6/10 de millimètre de diamètre 10 millilitres d'eau physiologique (ou de liquide Ringer). Les animaux sont sacrifiés trois heures plus tard et à l'aide d'une seringue on récupère le liquide non résorbé et

on mesure son volume.

Afin d'étudier le rôle possible de la toxine staphylococcique sur le phénomène de résorption péritonéale, celle-ci est inoculée à la dose de 1 millilitre en même temps que le liquide physiologique. Chez les animaux ayant reçu de la toxine, la résorption moyenne est inférieure à 50 % par contre, elle est supérieure à 50 % chez les animaux témoins. On recueille par exemple 3 à 4,5 ml de liquide restant. Selon les toxines utilisées le liquide restant peut varier de 6 à 9 millilitres environ. Ceci paraissant lié au phénomène inflammatoire local.

Il est possible d'exprimer l'activité des divers lots de toxine sur la résorption du liquide injecté dans la cavité péritonéale en pourcentage par rapport aux témoins (de 30 à 90 % selon les échantillons). Il faut cependant notér que cette action n'est que temporaire, au bout de 24 heures, le liquide est complètement résorbé aussi bien chez les animaux témoins que chez les animaux ayant reçu des filtrats de culture de souches toxigènes de staphylocoque.

c) autres toxines microbiennes

1. toxine diphtérique. Par injection intraplantaire de 0,15 ml de toxine diphtérique, on obtient un oedème apparaissant dans les heures suivant l'injection. La réaction disparaît à la 72ème heure, mais les animaux meurent le 5ème jour par suite de l'effet neurotoxique.

2. toxine du perfringens. Dans les mêmes conditions expérimentales, la réaction inflammatoire constatée avec la toxine du perfringens a une évolution voisine de celle observée pour la toxine staphylococcique.

Pour conclure, il est donc possible d'envisager l'utilisation de la toxine staphylococcique comme agent inflammatoire dans presque tous les modèles d'inflammation précédemment cités.

## COMPARAISON DE CE MODELE AVEC D'AUTRES MODELES D'INFLAMMATION

Les auteurs ont établi une comparaison entre l'intensité de la réaction inflammatoire produite par le nouveau modèle et par des modèles classiques standardisés tels que modèle au kaolin, modèle au formol, modèle à la carragénine.

a) oedème au formol

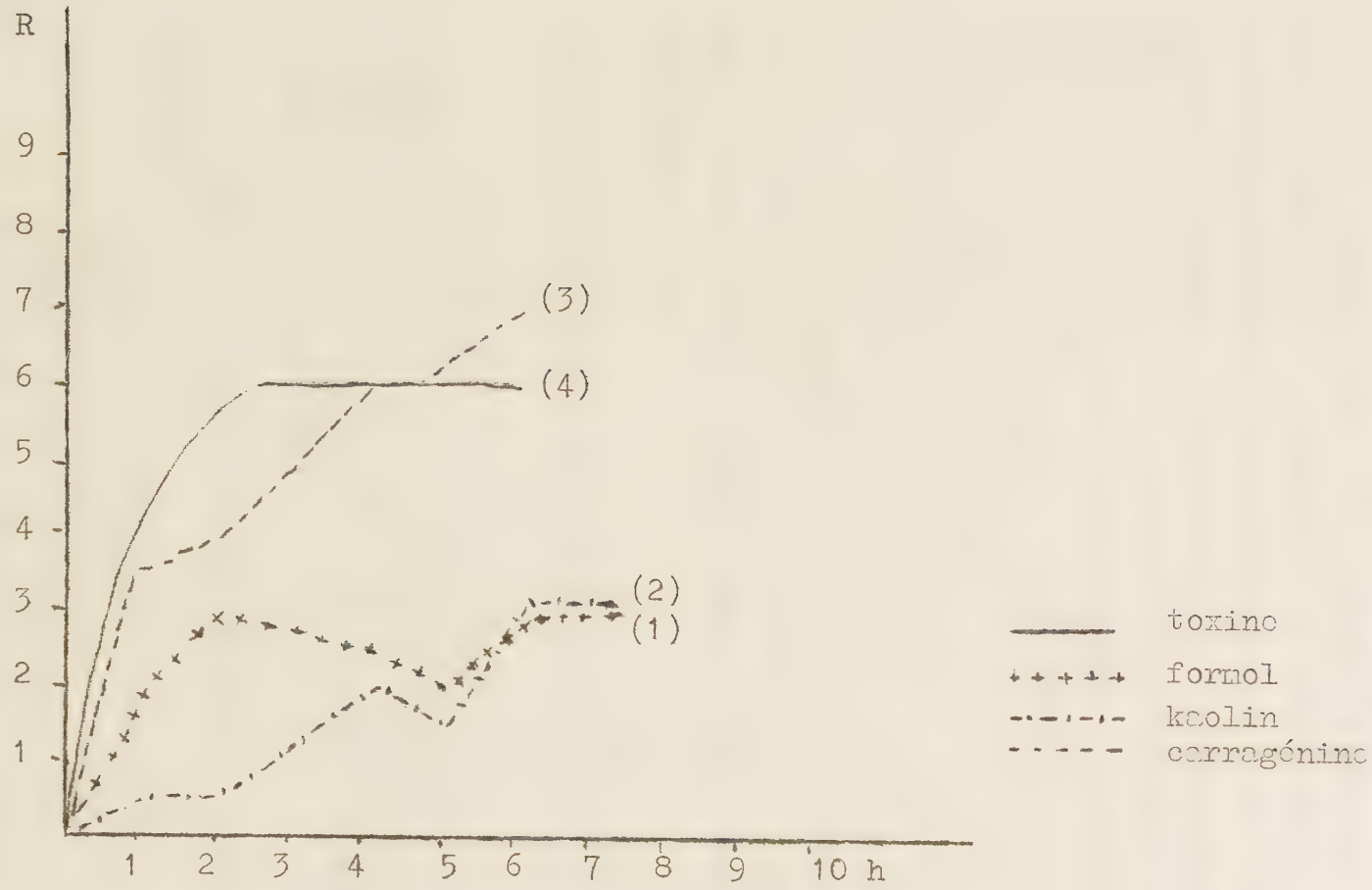
On a utilisé une solution de formol (aldehyde formique à 40 %) à 3 %. On injecte 0,1 ml de cette solution par voie sous-cutanée plantaire à un Rat de 140 $\pm$ 10 g. Un oedème local se développe rapidement et atteint son maximum au bout de deux heures. Il commence à décroitre au 2ème jour et disparaît vers le 6ème jour. C'est un oedème moins important que celui produit par la toxine staphylococcique (courbe 1).

b) oedème au kaolin

On injecte 0,15 ml d'une suspension à 10 % de kaolin dans de l'eau distillée que l'on a stérilisée 1/2 heure à 115°, dans le coussinet plantaire d'une des pattes arrière d'un Rat. On obtient un oedème similaire à l'oedème au formol, de même importance mais de développement moins rapide, son maximum est atteint à la 6ème heure (courbe 2).

c) oedème à la carragénine

Après injection de 0,15 ml d'une suspension à 1 % de carragénine dans le coussinet plantaire d'une des pattes postérieures d'un Rat, on observe au bout d'une heure une réaction oedémateuse intense (courbe 3) qui atteindra son maximum à la 24ème heure pour disparaître seulement au bout de 11 jours. C'est un oedème beaucoup plus important que les oedèmes obtenus avec le formol et le kaolin, légèrement plus intense que l'oedème produit par l'$\alpha$ staphylotoxine.




Evolution des oedèmes en fonction du temps

L'oedème créé par la toxine staphylococcique (courbe 4) est le résultat de 2 facteurs inflammatoires : un lent et un précoce, le facteur à activité inflammatoire lente est thermolabile, en effet le chauffage de la toxine pendant 1/2 h à 56° - 80° et 100° fait disparaître la réaction retardée commençant dès la 24ème heure que nous avons précédemment décrite. La réaction oedémateuse précoce persiste. Par contre, la dialyse de la toxine pendant 24 h. et 48 h. en eau distillée au réfrigérateur ne perturbe aucunement l'activité inflammatoire lorsque l'on inocule ce dialysat (intérieur du sac). Quant à l'extérieur du sac, il ne provoque aucun oedème. Le facteur responsable de l'activité inflammatoire lente n'est donc pas dialysable. Quant au facteur précoce, il est impossible de le mettre en évidence par dialyse car son activité pourrait être masquée par celle du facteur lent.

## UTILISATION DU MODELE DANS L'ETUDE DES ANTI-INFLAMMATOIRES

Dans un premier temps, ce sont des substances anti-inflammatoires d'un emploi classique en clinique humaine et vétérinaire qui ont été étudiées avec le modèle. Dans un second temps l'activité anti-inflammatoire de nouveaux produits encore à l'étude a été recherchée.

Lors de ces différents essais, un protocole strict a été observé :

- la réponse inflammatoire des témoins non traités devait être conforme aux critères précédemment décrits.
- n'a été retenu comme valable qu'un pouvoir anti-inflammatoire permettant une réduction supérieure de 25 % de l'inflammation locale.
- enfin, l'activité de toute substance nouvelle a été comparée avec celle d'une substance témoin de référence ici la phénylbutazone.

Il faut préciser que c'est l'activité thérapeutique globale des substances à l'étude qui a été mesurée, sans que leur mécanisme d'action soit envisagé.

a) essais sur le Rat

Le rapport entre l'oedème observé sur un lot d'animaux traités avec la substance anti-inflammatoire et la réaction du lot témoin permet d'évaluer la réduction du phénomène inflammatoire et ainsi d'en déduire l'activité anti-inflammatoire globale de la substance étudiée.

1. traitement local. Les pattes témoins étant traitées aux excipients seuls, on a constaté à la suite d'application pendant 24 heures sur la réaction inflammatoire de pansements avec des pommades à la phénylbutazone, à l'héparine, à l'$\alpha$ chymo-trypsine, à l'héparine + $\alpha$ chymo-trypsine, une très nette activité anti-inflammatoire.

2. traitement général. Un premier traitement est mis en route 5 minutes après l'injection de toxine et un deuxième 4 à 5 heures plus tard.

On pratique les injections à raison de 1 millilitre par voie intra-péritonéale, les témoins sont traités avec du sérum physiologique. On a pu observer dans les conditions expérimentales décrites, une activité anti-inflammatoire de 40 à 45 % pour l'$\alpha$ chymotrypsine (1 mg) et de 40 à 55 % pour la phénylbutazone (10 mg). Il est intéressant de noter que l'activité anti-inflammatoire de la phénylbutazone par traitement préventif est de 25 % sur l'oedème au kaolin, 53 % sur l'oedème au formol, 25 % sur l'oedème à la carragénine. Le pourcentage exact de l'activité des corticoïdes sur le modèle n'a pu être encore déterminé de façon valable. Des essais préliminaires paraissent indiquer une réduction très nette de la réaction inflammatoire sous l'action de la dexamethasone (16$\alpha$ méthyl 9$\alpha$fluoro delta hydrocortisone ou dectancyl[x]) et de la bétamethasone (9$\alpha$fluoro - 16 $\beta$ méthyl delta hydrocortisone ou celestene[x]).

Par comparaison avec l'activité de ces substances l'activité anti-inflammatoire de plusieurs lots de lysats enzymatiques de corps microbiens d'une souche de Bacillus a été étudiée. Cette souche identifiée comme Bacillus du Groupe I possède les caractères biochimiques du Bacillus subtilis. Ses propriétés antigéniques particulières permettent de la différencier d'autres souches de Bacillus (1). Elle n'a montré aucun pouvoir pathogène par inoculation ou réinoculation chez le Rat, la Souris et le Cobaye.

Les animaux reçoivent 2 injections intrapéritonéales de lysat à 5 heures d'intervalle. La première injection est faite après l'injection de toxine dans la patte. Le volume injecté est comme pour l'$\alpha$ chymotrypsine et la phénylbutazone de 1 millilitre, la dose de 2 milligrammes. Après 24 heures, on mesure l'activité anti-inflammatoire par rapport à celles de l'$\alpha$ chymotrypsine et de la phénylbutazone (Tableau 4 ).

On constate d'après les résultats obtenus, une activité égale ou supérieure à celle de la phénylbutazone et de l'$\alpha$ chymotrypsine pour les lysats bactériens. Ils ont de plus l'avantage d'être moins toxiques que la phénylbutazone. En effet l'activité anti-inflammatoire de cette dernière se situe à la limite des doses toxiques; les lysats bactériens sont actifs au 1/100 des doses toxiques.

De même, le test au lysat a montré une réponse similaire à la réponse obtenue avec d'autres dérivés pyrazolés au cours d'études parallèles.

2) ESSAIS SUR LA SOURIS

La dose injectée dans ce cas est de 0,5 ml. Les animaux

---

(1) le lysat est obtenu à partir des corps microbiens séparés de leur milieu de culture (bouillon nutritif saccharosé). Après 48 heures de culture submergée à 37°, les corps bactériens sont tués, délipidés et déshydratés par l'acétone-éther à - 20°. La lyse s'effectue en deux temps, d'abord par le lysozyme, ensuite par des enzymes protéolytiques. Le lysat est alors lyophilisé dans des flacons type pénicilline.

| SUBSTANCE | DOSE | RESULTAT EXPRIME EN % |
|---|---|---|
| Phénylbutazone ..... | 10 mg | 40 - 45 - 55 |
| ∝ chymotrypsine .... | 1 mg | 40 - 45 |
| Lysat Réf. L 3 ..... | 2 mg | 55 - 60 |
| Lysat Réf. L 6 ..... | 2 mg | 50 |

TABLEAU 4

| SUBSTANCE | DOSE | RESULTATS EN % |
|---|---|---|
| Phénylbutazone ..... | 4 mg | 65 - 75 |
| ∝ chymotrypsine .... | 0,5 mg | 65 - 75 |
| Lysat Réf. L 3 ..... | 1 mg | 85 |

TABLEAU 5

sont classés par lots de dix. Les conditions expérimentales sont similaires aux essais précédents.

Les expérimentations sur la Souris sont plus délicates et les résultats plus variables suivant les souches utilisées mais ils sont comparables aux résultats constatés pour les rats (Tableau 5).

## DISCUSSION DE L'INTERET DU MODELE

### a) Intérêt théorique

Les résultats des essais expérimentaux qui ont porté sur plus de 2.300 animaux permettent d'envisager la réalité de plusieurs ordres de faits concernant la réaction inflammatoire aigue.

Il est tout à fait vraisemblable comme l'a dit HALPERN que des mécanismes similaires dans leurs manifestations cliniques sont essentiellement différents dans leur mécanisme de production, bien qu'ils soient classiquement regroupés sous le terme général de "réaction inflammatoire".

Certains auteurs considèrent actuellement que l'action anti-inflammatoire manifestée par une substance serait nécessairement en relation avec ses propriétés ulcérigènes et son activité sur la frénation de la synthèse des mucopolysaccharides et du tissu conjonctif.

Grâce aux modèles d'étude utilisant des toxines microbiennes comme facteurs inflammatoires il nous paraît possible de mettre en évidence certaines spécificités de réponse de l'organisme. Si la suite des expériences permet d'affirmer l'exactitude de ce fait, nous pensons avec P. LALLOUETTE qu'il doit exister de véritables substances anti-inflammatoires, substances ayant une action spécifique envers certains types intrinsèques d'inflammation et agissant spécifiquement sur les mécanismes fondamentaux des différents phénomènes inflammatoires.

Enfin ce principe d'étude est d'un grand intérêt pour la recherche de l'interférence des mécanismes de l'inflammation et de l'immunité.

b) Intérêt pratique

La mise au point d'une méthode de titrage de l'activité inflammatoire de l'α staphylotoxine en utilisant la réaction provoquée par l'injection dans le coussinet plantaire d'une des pattes postérieures du Rat a permis de réaliser un nouveau modèle d'inflammation, modèle de mesure de l'activité thérapeutique de divers anti-inflammatoires, véritable modèle thérapeutique réalisant assez étroitement les conditions pathologiques classiques. Il est inutile de rappeler l'importance du rôle joué en pathologie humaine et vétérinaire par les staphylocoques.

Les anti-inflammatoires sont administrés après l'apparition de la réaction inflammatoire et non par traitement préalable à l'injection du facteur inflammatoire comme le précisaient toutes les expérimentations décrites jusqu'à présent.

c) Standardisation du modèle

Afin d'obtenir une comparaison statistique valable des réactions inflammatoires mesurables chez les animaux traités et chez les animaux servant de témoins, comparaison qui permettra de juger de l'efficacité des médications utilisées, il a été nécessaire de "standardiser" les facteurs susceptibles de faire varier les résultats au cours des mêmes conditions expérimentales.

a) Standardisation des animaux

Deux espèces différentes ont été choisies :

1. Rats de race Saint Louis et de race Wistar, mâles et femelles puisqu'il a été constaté que la différence de sexe n'avait semble-t-il pas d'influence sur la réponse inflammatoire. Les animaux d'un poids moyen de 140 $\pm$ 10 grammes proviennent tous des mêmes

élevages (1).

2. Souris de race Swiss et T B mâles et femelles d'un poids moyen de 18 à 20 grammes, provenant comme les rats de l'élevage propre du laboratoire ou d'élevages extérieurs toujours les mêmes (2).

b) Standardisation de la toxine

L'ensemble des expériences qui portent sur 25 toxines diverses a montré :

1° que la quantité de toxine produite varie d'un essai à l'autre dans les mêmes conditions de culture, de température et d'aération et ce, avec la même souche standardisée.

Cette variation porte sur l'élaboration de la "toxine" proprement dite dont la valeur est mesurée par la dose-test hémolytique et la dose minimale hémolytique. Elle porte également sur l'activité enzymatique et sur les facteurs inflammatoires.

2° que d'un échantillon à l'autre, la qualité des propriétés inflammatoires peut être variable.

Ce fait objectivé par les sensibilités différentes des oedèmes provoqués, aux anti-inflammatoires classiques peut trouver une explication dans la production relative des deux facteurs mis en évidence.

Les observations ci-dessus ont conduit à penser qu'il était préférable, afin d'obtenir les résultats les plus constants possibles, d'effectuer des mélanges additifs de divers lots. Ce mélange est alors dyalisé 48 heures contre de l'eau courante à froid, puis lyophilisé dans des flacons type pénicilline de 6, 8 millilitres.

---

(1) Elevage Ardenay, élevage Bore, élevage Gif sur Yvette, élevage Janvier pour la race Wistar, élevage du laboratoire pour la race St Louis.
(2) Elevage Janvier , élevage Martin pour la race Swiss élevage du laboratoire pour la race TB

La conservation de la toxine est ainsi quasi indéfinie et correspond à un titre standard évalué par moyenne de plusieurs séries de titrage.

c) Comparaison à un témoin thérapeutique

Il sera effectué un triple contrôle avec trois lots d'animaux : un premier lot ne recevra aucun traitement, les deux autres seront traités, l'un avec la substance à étudier, l'autre avec une substance témoin de référence à activité inflammatoire bien connue et bien déterminée, par exemple l'hydrocortisone pour les corticoïdes, la phérylbutazone pour les drogues non corticoïdes, la trypsine et l'$\alpha$ chymotrypsine pour les enzymes.

# C O N C L U S I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Après avoir évoqué l'historique de la notion d'inflammation en pathologie médicale, nous avons décrit sommairement les mécanismes de l'inflammation et ses différentes phases : la réaction vasculaire et la diapédèse, les réactions cellulaires, l'évolution du foyer inflammatoire en mentionnant certains éléments concernant la biochimie de ce phénomène.

Nous avons rappelé les principaux modèles expérimentaux d'étude du phénomène inflammatoire en fonction des animaux d'expérience, des agents inflammatoires utilisés, ainsi que les méthodes expérimentales constituant "les modèles d'inflammation".

Nous avons séparé les modèles sur animaux neufs des modèles sur animaux sensibilisés. Sur animaux neufs des modèles à réactivité immédiate, mixte et retardée sont décrits. Sur les animaux sensibilisés nous avons distingué la sensibilité spontanée de la sensibilité provoquée.

Ces divers modèles expérimentaux sont employés dans l'étude des substances anti-inflammatoires utilisables en thérapeutique. Les principaux anti-inflammatoires actuellement connus ont une action variable selon les différents modèles et nous avons discuté de leur intérêt respectif.

Le présent travail rapporte un nouveau modèle d'étude d'inflammation qui utilise les réactions provoquées chez les animaux d'expérience par les toxines staphylococciques. La préparation et les propriétés de ces toxines sont décrites ainsi que les protocoles d'expérience permettant de réaliser des modèles d'inflammation, plus particulièrement l'inflammation provoquée dans le coussinet plantaire d'une des pattes postérieures du Rat.

L'évolution de cette réaction inflammatoire est décrite ainsi que ses incidences immunologiques, c'est-à-dire le rôle de l'immunité naturelle et de l'immunité spécifiquement acquise envers la toxine staphylococcique.

Le rôle de l'immunité spécifique grâce à des expériences d'immunisation croisée, a pu être mis en évidence comme élément déterminant d'une diminution de l'intensité de la réaction inflammatoire.

La sensibilité de ce modèle d'inflammation a été étudiée avec les anti-inflammatoires connus et l'intérêt de son utilisation est discuté. Parallèlement des recherches préliminaires ont été effectuées concernant l'activité anti-inflammatoire de substances d'origine bactérienne isolées à partir du lysat enzymatique des corps bactériens d'une souche particulière de Bacillus subtilis. Les résultats obtenus indiquent le grand intérêt de ces substances en vue de leur intérêt thérapeutique compte tenu de leur très faible toxicité et de leur activité expérimentale comparable à celle de la phénylbutazone mais paraissant relever d'un mécanisme différent.

Nous comptons poursuivre nos travaux dans ce domaine.

VU, le Président,

M. le Professeur PARROT

VU, le Doyen,

M. le Professeur BROUET

VU, le Recteur,

M. ROCHE

# B I B L I O G R A P H I E

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

AMBROSE A.M. et de EDS F. -
J. Exp. Pharmacol. a. Therap. 1947, 90, 359.

ARRIGONI - MARTELLI E. et Coll. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

BARIETY M., COURY C. -
Histoire de la Médecine. A. Fayard éd. Paris, 1963.

BENITZ K.F., HALL L.M. -
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., 1959, 102, 442.

BERTI T. -
Int. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs., Milan, 1964.

BICHAT X. -
Traité d'anatomie générale. A. Delahaye libr. Paris, 1855.

BONTA I.L. -
Int. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan, 1964.

BONVALLET M. et DECOURT P. -
C.R. Soc. Biol., 1944, 198, 224.

BROWNLEE G.,
Lancet, 1950, 157, 28 Janvier.

CAHN J., HEROLD M., SENAULT B. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan, 1964.

CAUWENBERGE H. van et LECOMTE J. -
Experientia, 1952, 8, 469.

CAUWENBERGE H. van, LECOMTE J., COBLET J. et VLIERS M. -
Acta allergol. 1963, 6, 295.

CAUWENBERGE H. van, LECOMTE J. et COBLET J. -
Experientia, 1954, 10, 30.

COLLIER H.O.J. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

COSTE F., DELBARRE F. et BASSET-LACRONIQUE F. -
Sem. Hôp. Paris, 26-30 Août 1955, 31 : 50-51, 2708.

DELAUNAY A., FOUCQUIER E., BARDON Y. -
C.R. Acad. Sciences FR 1950, 1705-1706.

DELAUNAY A., BAZIN S. -
VIème Congrès Intern. de Thérap. Strasbourg, Oct. 1959, 217-238.

DELAUNAY A., BAZIN S. -
Annales Inst. Pasteur. 105 Oct. 1963, 4
106 Mars 1964, 3
107 Août 1964, 2

DELAUNAY A., BAZIN S. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan, 1964.

Dictionnaire de Médecine ou répertoire général des sciences médicales considérées sous les rapports théoriques et pratiques. Bechet jne éd. libr. de la Fac. de Méd. Paris 1837.

DOEPFNER W. et CERLETTI A. -
Int. Arch. Allergy, 1958, 12, 39.

DOMENJOZ R. -
Schweiz. med. Wschr., 1952, 82, 1123.

DOMENJOZ R. -
Actualités Pharmacologiques, 1954, 7ème série, 73.

DOMENJOZ R., MÖRSDOR F.K. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

DOUGHERTY T.F. et SCHNEEBELI G.L. -
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1950, 75, 854.

DOUGHERTY T.F. in PINCUS G. -
Recent Progress in Hormone Research, 1952, 7, p. 307.

DOUGHERTY T.F. et SCHNEEBELI G.L. -
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1955, 61, 328.

DUCHENE MARULLAZ P., VACHER J., BARBOT P. -
Vie Méd. Méd. Thérap. 1963, 44, 4 : 51-66.

DUCOMMUN P. -
Praxis, 1952, 41, 641.

DUCROT R., JULOU L. et Coll. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan 1964.

DUMAS J. -
Bactériologie médicale. Coll. Med. Chirurg. Flammarion.

ECKHART E.T., THOMAS G.B. et GOVIER W.M. -
Proc. Soc. Exp. Biol. a. 1958, 98, 211.

FIDA B. et BIAGGINI G.C. -
G. Bioch. 1959, 8, 353.

FRENCH C.E., ALLEN J.R. et DAVIDS K.J. -
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 1955, 89, 41.

GARATTINI S., JORI A. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

GARCET S. -
Thérapie, 1958, 13, 549-555.

GERMUTH F.G.Jr., NEDZEL G.A., OTTINGER B. et OYAMA J. -
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1951, 76, 177.

GÖZSY B. et KATO L. -
Nature 1956, 178, 1352, 15 Décembre.

GRISOLLES -
Traité de Pathologie Interne, Masson éd. Paris 1852.

GROSS F. -
Schweiz. med. Wschr., 1950, 80, 697.

GROSS F. -
Arch. exp. Pathol. u. Pharmakol., 1950, 211.

HAKIM A.A., DAILEY J.P., LESH J.B.-
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan 1964.

HALPERN B.N. et BRIOT M. -
Arch. Int. Pharmacodyn., 1950, 82, 247.

HALPERN B.N. -
"Histamine release by long chain molecules" in Ciba Foundation Symposium, Churchill ed., London, 1956.

HALPERN B.N. -
in VIe Congrès Intern. de Thérapeutique, Strasbourg Oct. 1959, 309.

HARRIS S. et HARRIS T.N. -
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., 1950, 74, 186.

HILLEBRECHT J. -
Arzneim. Forsch. 1954, 4, 607.

HOLZMANN H. et LEYH F. -
Arzneim. Forsch. 1960, 10, 756.

HORAKOWA Z. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

HOUCK J.C., JACOB R.A. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

JASMIN G. -
Revue Canad. Biol. 1956, 15, 107.

KELLETT D.N. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

KOLOUCH F. Jr. -
Amer. J. Pathol. 1939, 15, 413.

KOROSSY S., GOZONY M., BACKHAUSZ R., DOBIAS G. -
Acta allergol. Danem. 1962, 17, 5, 409-19. Ibid 420-9.
Bul. C.N.R.S. 1963 N° 9 vol. XXIV.

LALLOUETTE P., BOURDERON G. -
Rev. Immunol., 1961, 25, 1-22.

LALLOUETTE P., RICHOU R. et MANTEL N. -
C.R. Acad. Sc. Paris, Août 1964, 259, 1461.

LALLOUETTE P., RICHOU R., MANTEL N., SCHWARTZ A. -
Rev. Immunol. 1964, 28, 293-309.

LECOMTE J., CAUWENBERGE H. van et VLIERS M.M. -
Ach. int. Pharmacodyn. 1959, 121, 65.

LEGER J., MASSON C., PRADOS J.L. -
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1947, 64, 366.

LITTRE E. -
Hippocrate, oeuvres complètes - traduction nouvelle avec le texte grec en regard, collationnées sur les manuscrits et toutes les éditions. J.B. Baillière éd. Paris, 1840.

MARCY R. -
Prod. Pharm. 1961, 16, 9 : 402-424.

MARCY R., BARRES G. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan, 1964.

MARGOLIN S. -
Intern. Symposium on non steroidal antiinflammatory drugs. Milan 1964.

MEIER R., SCHULER W. et DESAULLES P. -
Experientia, 1950, 6, 469.

MENKIN V. -
Biochemical Mechanicisms in Inflammation.
Ch. C. Thomas Pub. Springfield, 1956.

MENKIN V. -
VI° Congrès Intern. de Thérapeut. Strasbourg. Oct. 1959, 239-273.

MERCIER F., MERCIER J., ETZENSPERGER P. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs. Milan, 1964.

MESSADI J.E. -
Etude critique des méthodes quantitatives de l'inflammation expérimentale. Applications pharmacologiques
Thèse Doct. med. Clermont-Ferrand 1962.

PARKES M.W. et WRIGLEY F. -
Brit. med. J., 1951, 1, 670.

POLICARD A. -
Presse médicale, 1962, 70, 53 : 2603-2606.

RICHOU R., RICHOU (Mme R.) QUINCHON Cl. et PANTALEON J. -
Rev. Immunol. 1960, 24, 496.

RICHOU R., QUINCHON Cl., RICHOU (Mme R.) -
Annali Sclavo, 1962, 4, 90.

RICHOU R., LALLOUETTE P. et QUINCHON Cl. -
Rev. Immunol. 1964, 28, 173-183.

RICHOU R., LALLOUETTE P., RICHOU H. et MANTEL N.-
C.R. Acad. Sc., Paris Nov. 1964, 259, 3895.

ROBERTSON W. (van B.) et SCHWARTZ B. -
J. Biol. Chem., 1953, 201, 689.

ROBERTSON W.(van B.), HIWETT J. et HERMAN C. -
J. Biol. Chem.,1959, 234, 105.

ROCHA e SILVA M., GARCIA LEME J. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

ROCHE L.C.H., SANSON L.J., LENOIR -
Pathologie médico-chirurgicale.
J.B. Baillière éd. 1844.

ROSKAM J., LECOMTE J., CAUWENBERGE H. et HUGUES J. van -
VI° Congrès intern. de Thérapeut. Strasbourg, Oct. 1959, 275-293.

SAXENA P.N. -
Arch. int. Pharmacodyn., 1960, 126, 228.

SELYE H. -
Endocr., 1937, 21, 160.

SELYE H. -
Brit. med. J., 1940, 2 : 1129, 19 Nov.

SELYE H. -
4th Conference on the Adrenal Cortex, Nov. 13-15, 1952, Josiah Macy Foundation, New-York.

SELYE H. et HORAVA A. -
Second Annual Report on Stress, Acta Inc. Publ. Montreal, 1952.

SELYE H. -
Surg. Clin. North. Amer., 1953, 33, 1417.

SELYE H. -
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1953, 82, 328.

SELYE H. -
J. Clin. Endocr. Metabolism, 1954, 14, 997.

SILVESTRINI B. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

SIM M.F. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan, 1964.

SRENGEL K. -
Histoire de la Médecine, traduite de l'allemand sur la seconde édition par A.J.L. Jourdan. Déterville éd. Paris 1815.

STENGER E.G. -
Experientia, 1958, 14, 383.

STENGER E.G. -
Arzneim.- Forsch., 1958, 8, 622.

STENGER E.G. -
Arzneim.- Forsch., 1958, 8, 693.

STOERK H.C. -
Feder. Proc., 1950, 9, 345.

STOERK H.C., BIELINSKI T.C. et BUDZILOVICH T. -
Amer. J. Pathol., 1954, 30, 616.

STUCKI J.C. et MEYER R.K. -
Endocr., 1955, 57, 173.

STÜRMER E. et CERLETTI A. -
Helv. Physiol. Acta, 1961, 19, C 32.

TAUBENHAUS M. et AMROMIN G.D. -
Endocr., 1949, 44, 359.

TAUBENHAUS M. et AMROMIN G.D. -
J. Lab. Clin. Med., 1950, 30, 7.

THEOBALD W. et DOMENJOZ R. -
Arzneim.- Forsch., 1958, 8, 18.

THIEBLOT L., BERTHELAY J. et VANNIER J. -
Thérapie, 1955, 10, 776.

THIEBLOT L., BERTHELAY J. et WOLF J. -
C.R. Soc. Biol., 1957; 151, 72.

THIEBLOT L., BERTHELAY J. et WOLF S. -
Sem. Hôp. Paris, Avril 1959, TH 309.

THIEBLOT L., BLAISE S. et BIDET J.M. -
Thérapie, 1960, 15, 1048.

TRNAVSKY K. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

TRONNIER H. -
Berufsdermatosen, 1960, 8, 3.

UNGARD G., KOBRIN S. et WEINSTEIN H. -
Amer. J. Physiol., 1951, 166, 340.

VACHER J., GOLDAUBERT Ph., DUCHÊNE-MARULLAZ P. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

VOORHEES A.B., BARER H.J. et PULASKI E.J. -
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1951, 76, 254.

WILHELMI G. -
Schweiz. med. Wschr., 1950, 80, 936.

WILHELMI G. et DOMENJOZ R. -
Arch. exp. Pathol., 1950, 212, 125.

WILHELMI G. et DOMENJOZ R. -
Arch. exp. Pathol., 1950, 1951, 85, 129.

WILHELMI G. -
Praxis, 1951, 39, 798.

WILHELMI G. -
Medizinische, 1952, 50, 1591.

WILHELMI G. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

WILLIAMS G. -
Brit. J. exp. Pathol., 1959, 40, 176.

WINDER C.V., WAX J., BURR V., BENN M. et ROSIERE C.E. -
Arch. int. Pharmacodyn. 1958, 116, 261.

WINTER C.A. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

WILLOUGHBY D.A. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.

WEST G.B. -
Intern. Symposium on nonsteroidal antiinflammatory drugs, Milan 1964.